Thèse de doctorat

Université de Limoges

Université de Limoges
ED 652 - Biologie, Chimie, Santé (BCS)
UMR INSERM RESINFIT 1092

Thèse pour obtenir le grade de
Docteure de l'Université de Limoges
Spécialité : Immunologie, oncologie, inflammation et infectiologie

Présentée et soutenue par
Anne-Laure Guenin

Le 12 décembre 2025

Epidémiologie One-Health et dynamique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter spp*.

Thèse dirigée par les Drs Sandra Da Re et Elodie Couvé-Deacon

JURY :

Président	M. Xavier Charpentier, DR, CIRI Inserm U1111, CNRS UMR 5308, ENS Lyon, Université Lyon-1
Rapporteur	M. Christophe Merlin, MCU, HDR, LCPME UMR7564 CNRS, Université de Lorraine
Examinateurs	M. Jean-Yves Madec, DR, Laboratoire Anses, Lyon Mme. Kathy Jeannot, PU-PH, CNR Résistance aux antibiotiques, Université de Bourgogne-Franche-Comté
Invitées	Mme. Maria-Halima Laaberki, MCU, HDR, Vetagro Sup, CIRI Inserm U1111, CNRS UMR 5308, ENS Lyon, Université Lyon-1 Mme. Sandra Da Re, CR, HDR, UMR Inserm 1092 Resinfit, Université de Limoges Mme. Elodie Couve-Deacon, MCU-PH, UMR Inserm 1092 Resinfit, Université de Limoges

A mon papa, à mes frères

A ma maman ✧✧

Licence CC BY-NC-ND 4.0

“Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s’adaptent le mieux aux changements.”

Charles Darwin

“Somewhere, something incredible is waiting to be known.”

Carl Sagan

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Serment relatif à l’intégrité scientifique

En présence de mes pairs,

Parvenues à l'issue de mon doctorat en Biologie, Chimie, Santé mention Immunologie, Oncologie, Inflammation et Infectiologie, et ayant ainsi pratiqué, dans ma quête du savoir, l'exercice d'une recherche scientifique exigeante, en cultivant la rigueur intellectuelle, la réflexivité éthique et dans le respect des principes de l'intégrité scientifique, je m'engage, pour ce qui dépendra de moi, dans la suite de ma carrière professionnelle quel qu'en soit le secteur ou le domaine d'activité, à maintenir une conduite intègre dans mon rapport au savoir, mes méthodes et mes résultats.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Remerciements

Tout d'abord je remercie les Docteurs Xavier Charpentier et Christophe Merlin d'avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteurs. Un merci particulier à Christophe pour votre encadrement durant mes stages de master, ce qui m'a donné envie de continuer dans la recherche. Je remercie également la Professeure Katy Jeannot et le Docteur Jean-Yves Madec d'avoir accepté d'être membres de ce jury de thèse en tant qu'examinateurs.
Enfin je remercie la Docteure Maria-Halima Laaberki d'avoir accepté d'être membre de mon CSI, mais aussi pour son accueil lors de mon déplacement au CIRI, et j'en profite aussi pour remercier la Docteure Anne Druilhe. Merci pour nos conversations et vos précieux conseils durant ces trois années.

Merci au Professeure Marie-Cécile Ploy pour son accueil au sein de l'unité ainsi que pour sa bienveillance.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à mes directrices de thèse, les Docteures Sandra Da Re et Elodie Couvé-Deacon, pour la confiance accordée et l'accompagnement tout au long de cette thèse. Merci pour votre patience dans les moments les plus difficiles, pour votre soutien précieux et vos conseils avisés, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Merci également à nos collaborateurs, Jean-Luc Zonderland et l'équipe du LDAR, Michaël Treilles, Yannick Caron et le laboratoire Qualyse, les membres de l'unité de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges ainsi que Sabine Pereyre, Camille Bataille, Anne-Marie Rogues et Véronique Dubois du CHU de Bordeaux, qui ont permis à ce travail de voir le jour.

Aux anciens membres d'ADPLim (Camille L., Camille S., Milène, Clarisse, Kenza, Maëlle et Yann), je vous remercie pour ces années à vos côtés que ce soit lors des réunions interminables ou des soirées !

Enfin merci aux membres de l'unité 1094 pour votre accueil au 3ème étage et pour nos discussions autour de la machine à café. Une attention spéciale à Alexis pour ta jovialité et tes blagues qui ont toujours mis l'ambiance durant les pauses repas.

Je tiens maintenant à adresser mes remerciements à l'équipe **RESINFIT** pour ces trois années à vos côtés, pour les bons moments que l'on a partagés et pour vos conseils. Merci pour votre accueil, pour votre bonne humeur, sans vous cela n'aurait pas été pareil.
Tout d'abord, merci à toi Cindy pour ta gentillesse, nos discussions et ton aide.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Merci à toute la « Team Viro » : Sophie A., Sébastien, Nader, Jean-Christophe, Nicolas, Manon, Alexia, Marine, Mélissa, Baptiste, Maxime, Sarah, Lucie L., Alain, Lucie et Camille L. (la petite nouvelle pas si nouvelle). Merci pour votre bienveillance, pour tous ces moments partagés en salle de pause, les débats animés sur les films de S-F (Nicolas), les TikToks représentant Geoffrey (Mélissa), les discussions sur la terrasse (Baptiste) ou encore pour le fameux Crunch au chocolat noir (Alexia). À Alain pour tous les « on est là » à la question « Comment ça va ? » et à Camille, pour les pauses café et toutes nos sorties en dehors du labo.

Je tiens aussi à remercier la Team JAMRAI/Promise (ceux que l'on a déplacés à la « cave ») Richard, Min, Luis, Karina, Yolanda, Yohann et Geoffrey. Merci à toi, Yohann, pour tes conseils, les discussions matinales quand le labo était encore calme, ta gentillesse et aussi pour ce super restaurant à Milan d'où nous sommes repartis avec de la liqueur de pistache ! A Karina, merci pour ton enthousiasme et nos échanges toujours agréables. Et surtout, vive « *Le grand jeu de l'antibiorésistance* », on a fait un carton. En parlant de la nuit de la recherche... Merci à toi Geoffrey pour ta bonne humeur et pour ton humour qui ressemble beaucoup (trop) au mien (j'en suis devenu à me demander si j'étais vraiment drôle…). Mais plus particulièrement, merci pour toutes tes « œuvres d'art » (vraiment il faut prendre en compte les guillemets) me représentant en bourdon, zèbre ou tout autre animal.

Je passe maintenant à la « Team Bactério » (ma team) ! Merci à vous, Olivier, Sophie R., Christophe, Thibault, Sylvain, Catalina, Marina, Fabien G. et Fabien J., Caroline, Marie-Sarah, Alice, Margaux et Linda pour nos échanges et pour vos bons conseils ainsi que pour votre gentillesse. Merci à toi Fabien G. pour toute ton aide durant ces trois années. Caroline pour nos échanges scientifiques et ceux qui l'étaient moins (nos chats). Et bien sûr, un immense merci à Margaux et Linda, pour vos conseils toujours bienvenus mais surtout pour tous les à-côtés, pour votre gentillesse, et votre bonne humeur.

A Camille B. et Matthias, merci pour votre aide ! J'ai eu beaucoup de plaisir à vous encadrer durant vos stages. Vous étiez des super stagiaires pleins d'entrain et de curiosité.

À Mélanie et Morgane pour votre accueil au sein du bureau et toutes les discussions qui ont suivi. Merci pour vos encouragements et votre soutien durant mes premières années. Un remerciement particulier aux membres actuels de mon bureau (ceux qui me supportent !). Marina, la nouvelle arrivée, je te souhaite bon courage pour la suite. Fabien J. et Lucie (la viro au sein des bactérios) je vous remercie pour toutes nos discussions, pour nos soirées et pour tous ces fous rires, malgré le fait que vous êtes souvent aigris. Tenez-moi au courant de l'avancement des travaux. À Pauline et Noé, nos intrus favoris, votre venue à notre étage est

Licence CC BY-NC-ND 4.0

toujours des plus appréciées car (i) elle indique l'heure de la pause mais surtout parce que (ii) votre bonne humeur est contagieuse.

Marie-Sarah, ton arrivée au sein de la Team ELANOR a signé le début de nombreux fous rire (j'en reviens toujours au glycérol !). Merci pour ton soutien indéfectible, pour ton aide précieuse, pour ta joie de vivre mais surtout merci pour ton amitié.

Alice (Team *Acineto*), merci pour les conseils bouquins (non je n'ai toujours pas terminé le Tome 2 du Problème à trois corps), notre week-end à Stresa (RIP les posters) mais aussi pour nos discussions animées sur notre souche bactérienne préférée. Merci pour ton support et pour m'avoir écouté râler. Pour le moment s'il y a bien une chose sur laquelle je ne peux pas te remercier c'est sur tes goûts cinématographiques…

Camille, je te remercie pour toutes nos soirées passées en microscopie (la débâcle des M&M's) où je m'exclamais devant t'es super images de cellules colorées pendant que j'écrivais la thèse. Mais merci aussi pour toutes les soirées que l'on n'a pas passées en microscopie. Celles qui finissaient toujours en échecs et où l'on terminait chez toi avec une tasse de thé et Nala (soit pas jalouse) alors qu'on partait pour un Moscow Mule et des gaufres. Dans tous les cas on se retrouve dans l'Est !

A Claire, Goury, le TAC de mon TIC, celle à cause de qui on m'a déjà appelé Anne-Laure Gourin ou Anne-Claire Guenin parce qu'on passait tout notre temps ensemble, à mon binôme de thèse en fait ! À cette rencontre devant les micro-ondes qui a donné le duo de choc. Merci pour tout, les soirées que l'on a partagées, les week-ends passés au laboratoire et nos virées shopping (20 min de shopping et 2h de papotage au Columbus). Merci pour ta patience (j'adore faire cette blague) pour ton enjouement et ta folie qui, malheureusement pour les autres, se combine très bien à la mienne. Kusjes !!!

A Justine, tout a commencé par un mojito après PPPMP mais sache que je suis ravie de te compter parmi mes amies proches. Merci pour tes visites à Limoges, ton accueil à Orléans et cette super journée au Futuroscope. Et à bientôt pour notre prochaine destination.

Florine, je te remercie d'être une amie en or et ce depuis le collège ! Je sais que je peux toujours compter sur toi. Merci pour toutes nos après-midi shopping qui se terminaient avec une glace au McDo, une tradition qu'il faudra perpétuer avec bébé Lou.

Mes prochains remerciements vont à ma famille proche, ceux qui ont toujours été là. À mes oncles, tantes, cousines et cousins, et tous les enfants qui vont avec.

Un grand merci aux « Charollais », ma tante, mon oncle et mes cousines, pour toutes les pauses café partagée lors de mes trajets.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

A la famille Guenin (les autres). Merci à tonton Guy ainsi qu'à ma marraine (la méchante), tout d'abord pour son passage à Limoges, mais aussi pour tous ces moments passés à La Romagne qui font partie de mes meilleurs souvenirs. À Ninie, Fanfan, Lily et Loulou pour les invitations à dîner qui finissait devant « Plus belle la vie » et pour les vacances à la plage. A Lolo, merci pour toutes nos soirées depuis les « pestacles » du samedi soir (qui déprimaient notre famille) jusqu'au Festi Mardi avec le thermos à café. De ce fait je suis obligé de remercier Mimi, Juju et Louise qui nous supportent lors de mes « vacances » à Chaudenay, ce qui n'est pas facile.

Gaëtan et Guillaume, je tiens à vous remercier d'être les frères que vous êtes. Même si vous ne comprenez pas toujours ce que je fais, vous m'avez toujours soutenu, et ce, depuis le début de ma vie. Je sais que je peux toujours compter sur vous, dans les hauts comme dans les bas. Je vous remercie également de m'avoir donné une nièce et un neveu formidables. Maëlyne et Marceau, même si je ne suis pas là souvent, je vous aime très fort. Marjorie, je suis heureuse de pouvoir te compter dans notre famille. Marlène, merci pour ton soutien et pas seulement depuis le début de cette thèse mais depuis bien plus longtemps.

Enfin je dédie mes derniers remerciements à mon papa. Pour avoir cru en moi et supporté tous mes choix. Pour m'avoir conduite jusqu'à Limoges passer le concours doctoral et avoir enduré 7h de route à m'entendre répéter le même texte. Pour m'avoir écouté parler de *Acinetobacter* et de qPCR qui ne marchaient pas et ce pendant 3 ans. Je veux tout simplement te dire, merci pour tout ! Une pensée pour ma maman avec qui je partageais tout, qui a toujours été là pour moi et m'a poussée à suivre mes rêves. Si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à vous, votre soutien et votre aide.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Droits d’auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :
« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 4.0 France** »
disponible en ligne https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0



Licence CC BY-NC-ND 4.0

Valorisation des travaux

Communications orales :

- **Guenin A-L.,** Couvé-Deacon E., Da Re S., Epidémiologie One-Health et dynamique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter spp*., Séminaire thématique de l'Ecole doctorale 652 Biologie-Chimie-Santé 2023, Limoges

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Da Re S., Couvé-Deacon E., Écologie et résistance aux antibiotiques de *Acinetobacter* selon le concept One-Health., SFM 2024, Lilles

- **Guenin A-L.,** Cayette M-S., Zonderland J-L., Treilles M., Couvé-Deacon E., Da Re S., "One-Health" strain collection of *Acinetobacter spp*. to identify their natural reservoir, 5ème edition des Microbiology Days 2024, Talence

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Da Re S., Couvé-Deacon E., Écologie et résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter* selon un continuum patient-rivière, PSGAR-MIE 2024, Pessac

- **Guenin A-L.,** Cayette M-S., Da Re S., Couvé-Deacon E., *Acinetobacter* ecology and antibiotic resistance along a patient-river continuum, FEMS Micro 2025, Milan - Italie

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Delphine Chainier D., Hervé Reilhac H., Monnerie P., Gasser S., Da Re S., Couvé-Deacon E., *Acinetobacter* dans un continuum patient – environnement : les siphons comme hot spot d'échange et de transmission ?, SF2H 2025, Nancy

- Da Re S., **Guenin A-L.,** Mignot M., Couvé-Deacon E., The *Acinetobacter baumannii* DNA-damage regulator UmuDAb represses the expression of integron integrase, XIV Symposium on the Biology of *Acinetobacter* 2025, Niagara Falls – Etats-Unis

Communications affichées :

- **Guenin A-L.,** Couvé-Deacon E., Da Re S., Construction of a "One-Health" strain collection for genomic characterization of *Acinetobacter spp*., SFM 2023, Rennes

- **Guenin A-L.,** Cayette M-S., Zonderland J-L., Treilles M., Couvé-Deacon E., Da Re S., Construction of a "One-Health" strain collection for genomic characterization of *Acinetobacter spp*., Séminaire de l'institut OmegaHealth 2024, Limoges

Licence CC BY-NC-ND 4.0

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Stalder T., Dagot C., Da Re S., Couvé-Deacon E., Ecology and antibiotic resistance of *Acinetobacter* according to the One Health concept, Séminaire de l'institut OmegaHealth 2024, Limoges

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Da Re S., Couvé-Deacon E., Ecology and antibiotic resistance of *Acinetobacter* in a patient-river continuum, WaterMicro 2025, Amersfoort – Netherlands

- Couvé-Deacon E., **Guenin A-L.,** Bataille C., Morel L., De Luca L., Dubois V., Pereyre S., Da Ra S., Rogues A-M., Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: role of the environment in the transmission, ICPIC 2025, Genève – Suisse

- Cayette M-S., **Guenin A-L.,** Stalder T., Dagot C., Da Re S., Couvé-Deacon E., *Acinetobacter* ecology and antibiotic resistance along a patient-river continuum, ICPIC 2025, Genève – Suisse

- **Guenin A-L.,** Cayette M-S., Da Re S., Couvé-Deacon E., *Acinetobacter* ecology and antibiotic resistance along a patient-river continuum, XIV Symposium on the Biology of *Acinetobacter* 2025, Niagara Falls – Etats-Unis

- Couvé-Deacon E., **Guenin A-L.,** Bataille C., Morel L., De Luca L., Dubois V., Rogues A-M., Da Ra S., Pereyre S., Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying a class 2 integron: role of the environment in the transmission during an outbreak in burn patients, XIV Symposium on the Biology of *Acinetobacter* 2025, Niagara Falls – Etats-Unis

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Table des matières

Serment relatif à l'intégrité scientifique 4
Valorisation des travaux 10
Introduction 22
Chapitre I. Epidémiologie du genre *Acinetobacter* 23
I.1. Les caractéristiques générales du genre *Acinetobacter* 23
I.2. Les espèces du complexe *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* 25
I.3. Distribution des souches de *A. baumannii* 28
I.4. Epidémiologie de *Acinetobacter spp* selon le concept One-Health 31
I.5. Diversité génétique et transformation naturelle chez *Acinetobacter baumannii* 33
I.6. La multirésistance chez le genre *Acinetobacter* 35
Chapitre II. Les intégrons 46
II.1. Définition et structure des intégrons 46
II.2. La régulation de l'expression des cassettes de gènes et du gène de l'intégrase *intI* 52
II.3. Les différentes classe d'intégrons 54
II.4. Epidémiologie des intégrons de résistance dans la dissémination des GRA 57
II.5. Epidémiologie des intégrons de résistance chez le genre *Acinetobacter* 60
Chapitre III. La régulation aux dommages de l'ADN chez le genre *Acinetobacter* 62
III.1. Les inducteurs de la réponse aux dommages de l'ADN 62
III.2. La réponse SOS 63
III.3. La réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter spp*. 64
Présentation du travail de thèse 89
Axe épidémiologique : Etude des niches écologiques des espèces de *Acinetobacter spp*. selon le concept One-Health 91
Matériel et Méthodes 93
I. Construction d'une collection de souche selon le concept One-Health 93
I.1. Les souches cliniques 93
I.2. Les souches animales 93
I.3. Les souches environnementales 93
II. Isolement et caractérisation des souches 95
II.1. Les prélèvements de fèces et de terre 95
II.2. Les prélèvements d'eaux 95
II.3. Les prélèvements de fond de gorge 95
II.4. Identification et conservation des souches 95
III. Caractérisation des souches de la collection 96

Licence CC BY-NC-ND 4.0

III.1. Détection de la présence d'intégron par PCR quantitative multiplexe en temps réel 96
III.2. Détermination du profil clonal des souches par ERIC-PCR 96
III.3. Détermination du profil de sensibilité aux antibiotiques.....97
III.4. Détermination de la capacité de transformation.....97
IV. Analyse des données épidémiologiques clinique 100
Résultats/ Discussion 102
Partie 1 : Ecologie et résistance aux antibiotiques du genre *Acinetobacter spp*., selon le concept One-Health 102
I. Construction et caractérisation d'une collection de souche de *Acinetobacter spp.* selon le concept One-Health 102
I.1. Les souches « animales ».....103
I.2. Les souches « environnementales » 106
I.3. Les souches « cliniques » 111
I.4. Comparaison de la distribution et de la sensibilité des espèces de *Acinetobacter* dans notre collection One Health 114
I.5. Focus sur les souches de *A. baumannii* 118
II. Evolution de l'épidémiologie de *Acinetobacter spp*. dans la région Nouvelle-Aquitaine entre 2014 et 2024 : étude des CHUs de Limoges et de Bordeaux.....121
II.1. Comparaison du taux d'incidence des souches de *Acinetobacter* isolées entre 2014 et 2024 dans deux CHU de Nouvelle-Aquitaine : CHU de Limoges et CHU de Bordeaux...121
II.2. Evolution de la diversité des espèces du genre *Acinetobacter* 123
II.3. Distribution des espèces par types de prélèvements 125
II.4. Focus sur les souches isolées d'hémocultures 126
II.5. Evolution de la résistance aux carbapénèmes 128
III. Analyse transversale One-Health de la diversité des espèces de *Acinetobacter* sur l'année 2024 130
III.1. Distribution des espèces par compartiment sur l'année 2024.....130
III.2. Profil de sensibilité des souches par compartiments 132
Conclusion intermédiaire 134
IV. Etude de la dissémination et de la persistance de *Acinetobacter spp*. selon un continuum patient-rivière 137
Partie 2 : Analyse génomique et phénotypique d'une épidémie à CRA*b* au CHU de Bordeaux 160
Axe fondamental : Etude de la régulation de l'intégrase des IM1 chez *A. baumannii*.185
Contexte de l'étude 186
Matériel et Méthodes.....189

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I. Souches bactériennes et plasmides....189
II. Les réactions de PCR....190
III. Construction des mutants de délétion *umuDAb* et *ddrR* de la souche AG2....191
IV. Construction des plasmides....192
IV.1. Digestion plasmidique et purification....193
IV.2. Amplification des inserts et purification....194
IV.3. Réactions In-Fusion....194
IV.4. Vérification des constructions....194
IV.5. Transformation des constructions dans les différents fonds génétiques de AG2....195
V. Courbe de croissance....195
VI. RT-qPCR....196
VI.1. Préparation du plasmide de gamme....196
VI.2. Préparation des culots et extraction des ARN....196
VI.3. Quantification des transcrits....196
VII. Retard sur gel....197
VII.1. Purification des protéines UmuDAb et LexA....197
VII.2. Amplification des fragments d'ADN contenant les sites de fixation de LexA ou UmuDAb....199
VII.3. Retard sur gel....199
Résultats/ Discussion....203
I. Etude de la fixation de la protéine UmuDAb sur la boite LexA du promoteur de l'intégrase d'IM1....203
II. Etude du rôle des protéines UmuDAb et DdrR sur l'activité du promoteur PintI1 chez un intégron de classe 1....205
II.1. Etude de l'activité du promoteur PintI1 chez *A. baumannii*....205
II.2. Courbe de croissance....207
II.3. Quantification des transcrits *intI1*....207
II.4. Quantification des transcrits *uidA*....210
Conclusion....213
Discussion....215
Conclusion et Perspectives....227
Références bibliographiques....**Erreur ! Signet non défini.**
Annexes....264

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Abréviations

°C	Degré Celsius
3'CS	Séquence Conservée 3'
5' CS	Séquence Conservée 5'
A	Adénine
AbaR	*Acinetobacter baumannii* Resistance Islands
AbGRI	*Acinetobacter baumannii* Genomic Resistance Islands
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADN-db	ADN double-brin
ADN-sb	ADN simple brin
AMK	Amikacine
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMP	Adénosine Monophosphate
Apr	Apramycine
ARN	Acide RiboNucléique
ATB	Antibiotiques
BGN	Bactéries à Gram Négatif
BLSE	β-Lactamase à Spectre Elargi
Bp	base paire
BRA	Bactéries Résistantes aux ATB
C	Cytosine
C3G	Céphalosporine de 3ème Génération
C4G	Céphalosporine de 4ème Génération
CAZ	Ceftazidime
CC	Complex Clonal
CEQ	Cefquinome
CG	Cassette de Gène
CHL	Chloramphénicol
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIP	Ciprofloxacine
COL	Colistine
Complexe *Acb*	Complexe *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*
CR	Carbapenem Resistant

Licence CC BY-NC-ND 4.0

CRAb	Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*
CRO	Ceftriaxone
D	Sensible à forte posologie
DO	Densité Optique
EFT	Ceftiofur
ENR	Enrofloxacine
FDA	Food and Drug Administration
FEP	Céfépime
FFC	Florfénicole
FT	Fréquence de Transformation
G	Guanine
GC	Global Clone
GEN	Gentamicine
GRA	Gène de Résistance aux Antibiotiques
ICE	Elément conjugatif intégratif
IM	Intégron Mobile
IPM	Imipénème
ISC	Intégron Sédentaire Chromosomiques
JH	Journées d'Hospitalisation
Kan	Kanamycine
LB	Lysogenic Broth
MATE	Multi-Antimicrobial and Toxic Compund
MDR	Multi-Drug Resistant
MH	Mueller Hinton
MLST	Multi Locus Sequence Typng
MMC	Mitomycine C
ORF	Open Reading Frame (cadre de lecture ouvert)
PDR	Pan-Drug Resisatnt
PRL	Piperacilline
R	Résistante
RI	Resistance Islands
RND	Resistance, Nodulation, cell Division
S	Sensible
ST	Sequence Type

Licence CC BY-NC-ND 4.0

STEP	STationd'EPuration
SXT	Trimethoprime - Sulfométhoxazole
T	Thymine
T4P	Pili de Type 4
TCC	Ticarcilline – Acide clavulanique
TET	Tétracycline
THG	Transfert Horizontal de Gène
TIC	Ticarcilline
TMP	Trimethoprime
Tn	Transposon
TOB	Tobramycine
TZP	Ppieracilline - Tazobactame
VE	Vésicule Extracellulaire
XDR	eXtensively Drug Resistant

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Table des illustrations

Figure 1 : Arbre phylogénétique du genre *Acinetobacter* 24

Figure 2 : La biologie de *A. baumannii* 27

Figure 3 : Analyse par arbre du CC et du ST de 154 souches *de A. baumannii* 30

Figure 4 : Organisation génétique des homologues liés à la transformation décrits chez la souche *A. baumannii* communautaire D1279779 34

Figure 5 : Evolution de la résistance chez *A. baumannii* 36

Figure 6 : Pourcentage global de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* 37

Figure 7 : Schéma récapitulatif des mécanismes de résistances aux antibiotiques chez *A. baumannii* et les possibles thérapeutiques alternatives 38

Figure 8 : Les mécanismes du transfert horizontal de gène 40

Figure 9 : Vue d'ensemble schématique des différents variants d'AbaR retrouvés au sein du GC1 43

Figure 10 : représentation schématique de AbGRI1 44

Figure 11 : Représentation schématique d'un AbGRI2 45

Figure 12 : Représentation schématique de AbGRI3 45

Figure 13 : Représentation schématique de AbGRI4 45

Figure 14 : Structure schématique de AbGRI5 45

Figure 15 : structure schématique d'un intégron de classe 1 46

Figure 16 : schéma représentant les activités de recombinaison de l'intégrase IntI1 47

Figure 17 : Structure du site de recombinaison *attI1* 49

Figure 18 : Structure du site de recombinaison spécifique *attC* 51

Figure 19 : Organisation de la région contenant les promoteurs Pc et PintI1 chez les IM1 54

Figure 20 : Modèle hypothétique de l'origine des IM1 55

Figure 21 : Structure d'un intégron de classe 2 56

Figure 22 : Facteurs contribuant à la dissémination des BRAs et des GRAs selon le concept 59

Figure 23 : Les différents signaux et mécanismes pouvant induire la réponse aux dommages de l'ADN 63

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Figure 24 : Représentation schématique de l'activation de la réponse SOS 64

Figure 25 : Localisation des prélèvements environnementaux autour de Limoges 94

Figure 26 : Localisation des sites d'échantillonnages effectués par le LDAR24 94

Figure 27 : Colonies isolées sur CHROMagar™ *Acinetobacter* à partir d'un échnatillon de terre 96

Figure 28 : Distribution des souches de *Acinetobacter* par espèces en fonction de l'espèce animale 104

Figure 29 : Profils de sensibilité des souches isolées des animaux 106

Figure 30 : Distribution des souches de *Acinetobacter spp*. par espèces selon le lieu et le type de prélèvements.....108

Figure 31 : profils de sensibilité des souches isolées dans les prélèvements d'eau.....109

Figure 32 : profils de sensibilité des souches isolées dans les prélèvements de terre 110

Figure 33 : Distribution des souches de *Acinetobacter* isolées de patients aux CHUs de Limoges et de Bordeaux par espèces selon le type de prélèvements.....112

Figure 34 : profils de sensibilité des souches cliniques.....113

Figure 35 : Distribution des espèces de *Acinetobacter* selon l'origine.....114

Figure 36 : Profil de sensibilité des souches.....116

Figure 37 : Caractérisation des souches de *A. baumannii* 120

Figure 38 : Evolution dans le temps de *Acinetobacter spp*. isolées au CHU de Limoges (bleu-gris) et au CHU de Bordeaux (bordeaux) entre 2014 et 2024. 122

Figure 39 : Evolution de la diversité des espèces isolées au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024 124

Figure 40 : Distribution des souches de *Acinetobacter* isolées au CHU de Limoges et de Bordeaux en fonction du type de prélèvements.....125

Figure 41 : Nombre de souches, par espèces, isolées d'hémocultures et nombre de patients infectés au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024.....127

Figure 42 : Comparaison des taux d'incidence, par espèce, isolées d'hémocultures et incidence des infections à Acinetobacter au sein des CHUs de Limoges et Bordeaux entre 2014 et 2024 128

Figure 43 : Profil de sensibilité des souches l'imipenème par année et par CHU.....129

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Figure 44 : Distribution des souches de *Acinetobacter* selon l'espèce et le compartiment d'origine 130

Figure 45 : Profil de sensibilité des souches en fonction de l'antibiotique testé et du compartiment 132

Figure 46 : Représentation schématique de la construction double utilisée 186

Figure 47 : Quantification par RT-qPCR de l'activité du promoteur PintI1 chez CM152 et CM152*::umuDAb* portant les plasmides pPcS, pLexA*-OriA et pPcS*-LexA*-OriA 187

Figure 48 : Stratégie d'édition du génome sans cicatrice adaptée de (Godeux *et al.*, 2020) 192

Figure 49 : Représentation schématique de la construction plasmidique portant un IM1 193

Figure 50 : Surproduction et purification des protéines LexA de *E. coli* et UmuDAb de *A. baumannii*.....198

Figure 51 : Vérification de l'intégrité des protéine UmuDAb et LexA 203

Figure 52 : Fixation de la protéine UmuDAb aux promoteur PumuDAb et PintI1 204

Figure 53 : UmuDAb se fixe sur la boite LexA de PintI1 205

Figure 54 : Représentation schématique des différentes constructions utilisées dans cette étude 206

Figure 55 : Effet de la délétion des gènes *umuDAb* et *ddrR* et des plasmides pWT et pLexA* sur la croissance de la souche de *A. baumannii* AG2 207

Figure 56 : Activité du promoteur PintI1 dans les différents fonds génétiques de AG2 208

Figure 57 : Représentation schématique des constructions en fusion transcriptionnelle PintI1-*uidA* 210

Figure 58 : Effet de la délétion des gènes *umuDAb* et *ddrR* et des plasmides contenant pPcS et pLexA*-OriA sur la croissance de la souche de *A. baumannii* AG2 210

Figure 59 : Activité du promoteur PintI1 dans les différents fonds génétiques de AG2 portant plamsides pPcS et pLexA*-OriA 211

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Table des tableaux

Tableau 1 : Pourcentage d'identité (en bleu) et de similarité (en rouge) entre les séquences protéiques des intégrases des IMs 48

Tableau 2 : Souches et plasmides utilisés dans l'axe épidémiologie 99

Tableau 3 : Amorces et sondes utilisées dans l'axe épidémiologie 99

Tableau 4 : Liste des ATB testés dans cette étude 100

Tableau 5 : Synthèse du nombre de prélèvements effectués et du taux de positivité de chaque site selon le type de prélèvement 107

Tableau 6 : Pourcentage des espèces du complexe *Acb*, de *A. ursingii* et des autres espèces isolées par type de prélèvement et par CHU 126

Tableau 7 : Plasmides utilisés dans l'étude préliminaire 187

Tableau 8 : Souches et plasmides utilisés dans l'axe fondamental 189

Tableau 9 : Plasmides, enzymes de restriction, matrices et amorces utilisés pour les différentes constructions plasmidiques par In-Fusion 195

Tableau 10 : amorces et plasmides de gamme utilisés pour la quantification par RT-qPCR du nombre de transcrits des gènes d'intérêt 197

Tableau 11 : Amorces utilisées dans l'axe fondamental 199

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Introduction

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chapitre I. Epidémiologie du genre *Acinetobacter*

I.1. Les caractéristiques générales du genre *Acinetobacter*

Le nom *Acinetobacter* vient du grec kineô « se mettre en mouvement » devant lequel est placé le préfix -a- privatif donnant alors la notion de non-motile. Ce genre bactérien comprend une large variété d'espèces à Gram négatif, oxydase négatives, catalase positives, strictement aérobies, biochimiquement et physiologiquement différentes, pouvant être retrouvées au sein des environnements naturels (Al Atrouni, Joly-Guillou, et al., 2016) et chez les animaux, dont certaines espèces jouent un rôle important dans les infections humaines opportunistes (Adewoyin & Okoh, 2018).

Historiquement les membres du genre *Acinetobacter* ont été classés sous, au minimum, 15 noms génériques différents (Baumann, 1968) tels que *Micrococcus calcoaceticus* (Beijerinck, 1911) ou encore *Moraxella glucidolytica* et *Moraxella lwoffii* (Brisou, 1957; Piechaud et al., 1956). Dans les années 1950, Brisou et Prevot proposent de classer sous le nom *Acinetobacter,* l'ensemble des bactéries non-motiles précédemment identifiées en tant que *Achromobacter* (Brisou & Prevot, 1954). Cependant ce n'est qu'en 1968 que Paul Baumann, un microbiologiste américain, propose de rassembler sous un même genre, pour lequel le nom *Acinetobacter* avait été proposé, les bactéries partageant des caractéristiques nutritionnels et biochimiques très proches (sources de carbone pouvant permettre la croissance bactérienne, utilisation du nitrate, production d'enzymes protéolytiques et lipolytiques ainsi que réactions impliquées dans l'oxydation des sucres et des composés aromatiques) (Baumann et al., 1968). Par la suite, l'avancée des techniques d'identification par biologie moléculaire et séquençage vont permettre de mieux définir la taxonomie du genre *Acinetobacter* (Bergogne-Bérézin & Towner, 1996), cependant, les espèces du genre restent encore mal décrites. En effet jusqu'à la fin des années 1980 seule une espèce était décrite dans le genre *Acinetobacter*, *A. calcoaceticus,* parfois accompagnée de *A. lwoffii*. Par la suite l'identification des espèces *A. baumannii, A. haemolyticus, A. johnsonii* et *A. junnii* ainsi que la redéfinition des espèces *A. calcoaceticus* et *A. lwoffii* va permettre une avancée majeure dans la taxonomie de ces espèces (Bouvet & Grimont, 1986).

A ce jour, le genre *Acinetobacter* est composé de 88 espèces pour lesquelles il existe des publications valides (www.bacterio.net, 06 aout 2025). De nouvelles espèces sont toujours régulièrement découvertes telles que *Acinetobacter suaedae* isolée en 2024 de sol rhizosphérique en Chine (Xu et al., 2024).

Enfin, la grande majorité des espèces pathogènes du genre *Acinetobacter*, fait partie du complexe *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (*Acb*) (**Figure 1**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

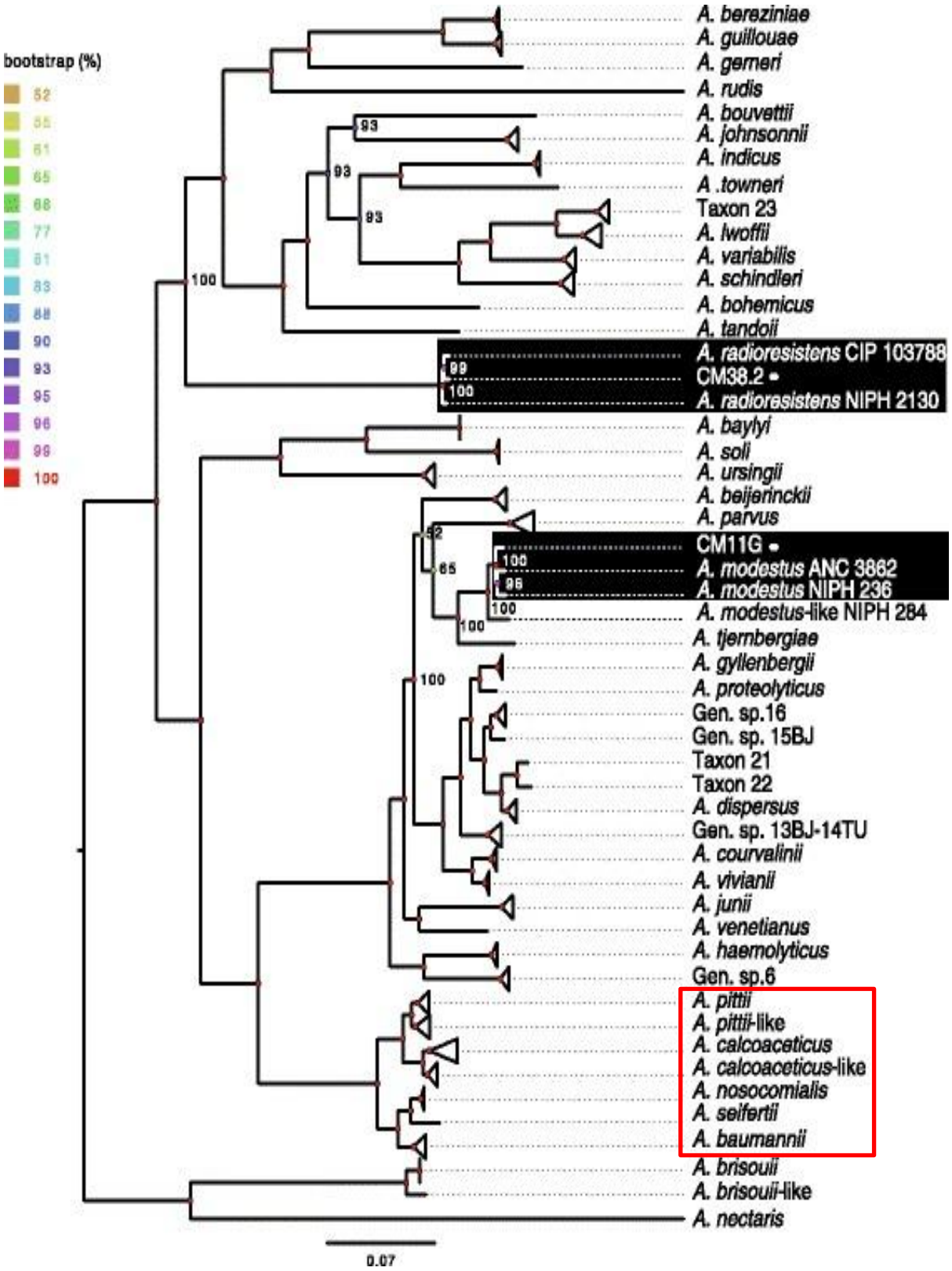


Figure 1 : Arbre phylogénétique du genre *Acinetobacter*

Phylogénie du genre *Acinetobacter* fondée sur l'alignement des familles de protéines du core génome. Les triangles marquent les groupes de taxons qui appartiennent à la même espèce et la barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site. En rouge sont encadrées les espèces du complexe *Acb* (adapté de Saffarian *et al.* 2017).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.2. Les espèces du complexe *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*

I.2.1. Les différentes espèces du complexe

Le complexe *Acb* regroupe les espèces de *Acinetobacter* génétiquement proches entre elles les rendant difficiles à distinguer les unes des autres (Peleg et al., 2008). Il était historiquement composé des espèces *A. calcoaceticus, A. baumannii, A. pittii* et *A. nosocomialis* (Gerner-Smidt et al., 1991) et inclut désormais les espèces *A. seifertii* (Nemec et al., 2015) et *A. lactucae* (anciennement *dijkshoorniae*) (Cosgaya et al., 2016).

I.2.1.1. *Acinetobacter seifertii et Acinetobacter lactucae : les nouvelles espèces*

C'est en 2015 que *A. seifertii* a été reconnue comme espèce appartenant au complexe *Acb* (Nemec et al., 2015). Elle était auparavant connue sous le nom d'espèce génomique «proche de 13TU» (Gerner-Smidt et al., 1991) et a été isolée à partir de prélèvements cliniques ainsi que dans l'environnement dans différents pays. Ainsi, *A. seifertii* a été décrite comme étant responsable d'un certain nombre d'infections nosocomiales avec des souches multi-résistantes aux antibiotiques (MDR pour Multi Drug Resistant) (da Silva et al., 2023).

La première description de *A. dijkshoorniae* a été publiée en 2016 dans une étude portant sur le complexe *Acb*. Elle a été identifiée à partir de 12 souches cliniques isolées sur 15 ans dans différents pays (Cosgaya et al., 2016). Cependant en 2018, des comparaisons génomiques approfondies ont révélé que *A. dijkshoorniae* correspondait à *A. lactucae*, qui avait été décrite simultanément en 2016, entraînant une synonymie officielle (Dunlap & Rooney, 2018). Le nom *A. dijkshoorniae* reste toutefois utilisé dans la littérature, notamment dans les études antérieures à 2018. Ainsi, bien que moins fréquente que *A. baumannii*, cette souche reste un potentiel pathogène opportuniste notamment chez les patients immunodéprimés (Sheck et al., 2023).

I.2.1.2. *Acinetobacter pittii et Acinetobacter nosocomialis : des pathogènes émergents*

En 2011, les espèces *Acinetobacter* 13TU (décrites comme très proches de *A. baumannii* au point d'être tout d'abord classées comme telles) et *Acinetobacter genomic species* 3 furent renommées *A. nosocomialis* et *A. pittii* respectivement (Nemec et al., 2011).

A. pittii est connue pour être impliquée dans des infections nosocomiales, telles que des bactériémies et des pneumonies chez les patients immunodéprimés. En milieu hospitalier, cette espèce représente une proportion significative des infections associées au complexe *Acb*. Une étude sur les bactériémies dans un hôpital français, publiée en 2018, met en avant une prévalence plus élevée de *A. pittii* que de *A. baumannii* (Pailhoriès et al., 2018). De plus, bien que les souches de *A. pittii* isolées lors d'infections associées aux soins soient généralement plus sensibles que celles de *A. baumannii*, des souches résistantes aux carbapénèmes, par production de carbapénèmases telles que Bla_{OXA-58} ou encore Bla_{NDM-1}, ont été rapportées compliquant la prise en charge des patients (Klotz et al., 2017).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tout comme *A. pittii*, *A. nosocomialis* peut être responsable d'infections associées aux soins (telles que des pneumonies et des bactériémies) chez les immunodéprimés, mais aussi d'infections communautaires (Nithichanon et al., 2022). Elle est considérée comme étant moins résistante aux antibiotiques (ATB) que *A. baumannii*, mais des isolats avec des profils hautement résistant ou eXtensively Drug Resistant (XDR) ont été identifiés (Amaral et al., 2023). Cependant, la difficulté d'identifier précisément *A. nosocomialis,* du fait de sa proximité génétique avec *A. baumannii,* peut entraîner une sous-estimation de son rôle dans les infections (Nithichanon et al., 2022).

I.2.1.3. *Acinetobacter calcoaceticus : une bactérie environnementale*

A. calcoaceticus fût la première espèce classée dans le genre *Acinetobacter*. Elle est principalement retrouvée dans l'environnement (sol, eau, eaux usées), sur les végétaux, et peut être isolée de prélèvements cutanés (Al Atrouni, Joly-Guillou, et al., 2016). Sa prévalence au sein d'échantillons environnementaux est plus élevée que les autres espèces du complexe *Acb* confirmant son adaptation et sa prédominance dans les milieux naturels (Benoit et al., 2024). Cependant, bien que *A. calcoaceticus* soit connue pour sa prévalence dans le réservoir environnemental, elle peut être responsable d'infections associées aux soins mais reste généralement plus sensible aux ATB que *A. baumannii* (Tien et al., 2012).

I.2.1.4. *Acinetobacter baumannii : un pathogène opportuniste multi-résistant*

A. baumannii est aujourd'hui considéré comme l'un des principaux pathogènes responsables d'infections associées aux soins notamment chez les patients immunodéprimés ou au sein des unités de soins critiques (Ayoub Moubareck & Hammoudi Halat, 2020; Howard et al., 2012). Depuis 2016, *A. baumannii* est classé parmi les 6 pathogènes multi-résistants aux ATB les plus sévères, responsables d'infections associées aux soins, qui sont regroupés sous l'acronyme ESKAPE (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp*.) (Rice, 2008). De plus, les souches de *A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes (CRA*b*) ont été classées par l'OMS en 2017, puis en 2024, respectivement 1er et 3ème pathogènes prioritaires concernant la découverte et le développement de nouveaux ATB (Sati et al., 2025).

I.2.2. Pouvoir pathogène et réservoirs

Chez l'Homme, *A. baumannii* peut être retrouvée en portage (colonisation de la peau ou encore du tube digestif) mais être aussi responsable d'infections diverses telles que urinaires, respiratoires (pneumonies associées à la ventilation mécanique) ou encore de bactériémies (Chopra et al., 2013; Chung et al., 2011; Joly-Guillou, 2005). En outre, sa capacité à survivre sur des surfaces inertes, en formant des biofilms, pendant plusieurs mois favorise sa persistance et sa transmission dans les environnements hospitaliers (Jawad et al., 1998; Nocera et al., 2021). Au début des années 2000, *A. baumannii* est devenu une préoccupation

Licence CC BY-NC-ND 4.0

majeure dans les zones de conflits en devenant la principale cause d'infection chez les soldats blessés (Scott et al., 2004). En effet la transmission croisée de souches acquises dans des hôpitaux militaires en zone de guerre par des soldats rapatriés, était très probablement à l'origine de la propagation de souches multirésistantes de *A. baumannii* au sein d'hôpitaux civils aux Etats-Unis et en Europe (Peleg et al., 2008).

La virulence de *A. baumannii*, plus spécifiquement, repose sur plusieurs facteurs de virulence acquis au fil du temps (**Figure 2**).

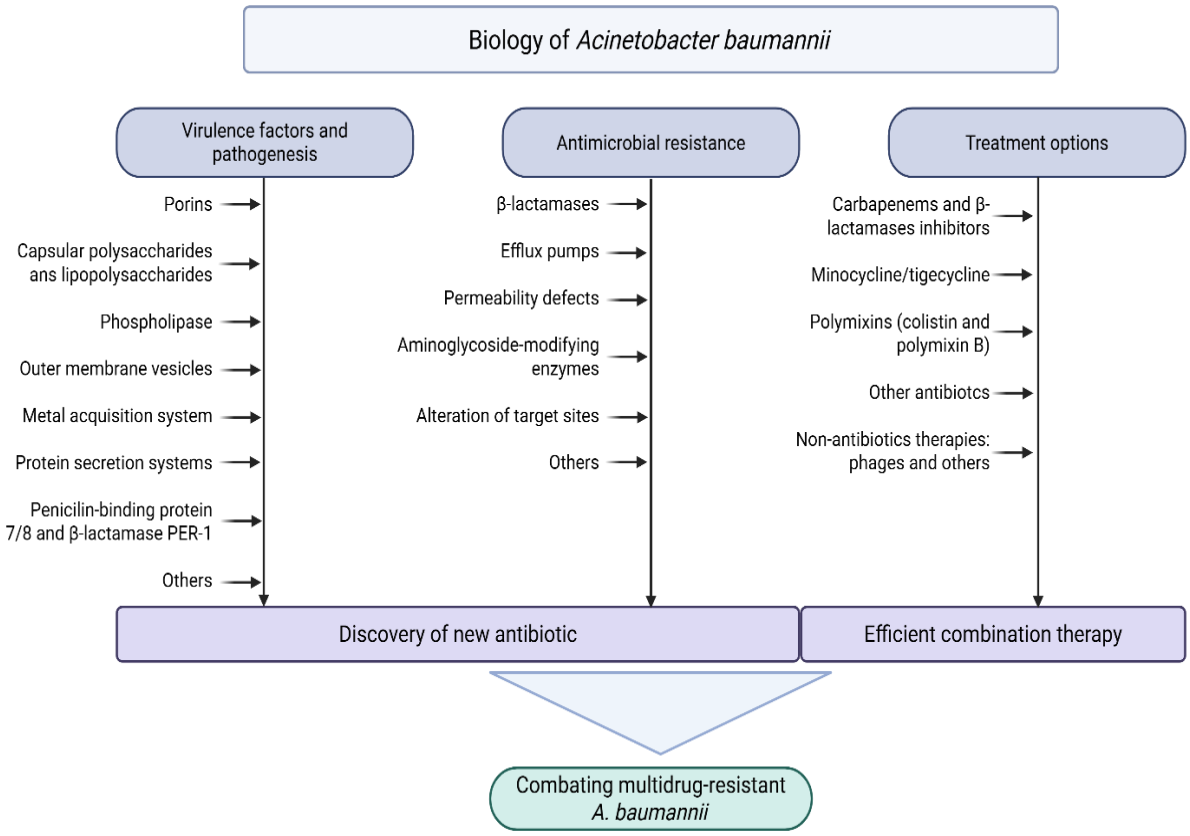


Figure 2 : La biologie de *A. baumannii*

A. baumannii a acquis des facteurs de virulences lui permettant d'échapper au système immunitaire de l'hôte. De plus, cette espèce est passée de germe multi-sensible à pathogène multi-résistant et même pan-résistant pour certaines souches. Du fait de cette multirésistance, les options thérapeutiques se réduisent et la nécessité de découvrir de nouveaux antibiotiques s'accentue (adapté de Lee *et al.* 2017). Créée sur https://BioRender.com

Parmi les facteurs de virulence identifiés on trouve : les capsules et des lipo-oligosaccharides permettant de protéger la bactérie de la dessication et des défenses immunitaires de son hôte, des protéines de membrane externe, telle que OmpA, qui joue un rôle dans l'adhésion et la cytotoxicité de la bactérie, et des phospholipases favorisant l'invasion cellulaire, l'acquisition du fer et sa capacité à former des biofilms et permettant, de ce fait, sa persistance et sa résistance (Lee et al., 2017; Weber et al., 2016; Wong et al., 2017).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Les réservoirs non-hospitaliers de *A. baumannii* sont nombreux. En effet des souches ont été retrouvées dans l'environnement (sols, eaux, sites contaminés et stations d'épuration) (Eveillard et al., 2013; Goic-Barisic et al., 2017; Hrenovic et al., 2014), sur les végétaux, dans les aliments, chez les animaux de compagnie, d'élevages et sauvages ainsi que chez l'être humain en portage asymptomatique (Eveillard et al., 2013). Certaines souches isolées de ces réservoirs ont même été identifiées comme étant MDR, ce qui suggère un rôle de ces réservoirs dans la dissémination et l'émergence d'infections communautaires à *A. baumannii*.

I.2.3. Pouvoir épidémiogène

Une des caractéristiques de *A. baumannii* est son fort pouvoir épidémiogène pouvant conduire à des épidémies de grande ampleur. En milieu hospitalier, le mode de transmission principal est par manuportage de la flore cutanée (L. C. McDonald et al., 1999; Spellberg & Bonomo, 2013). Cependant l'environnement clinique constitue un réservoir important du fait, comme indiqué précédemment, de la capacité de *A. baumannii* à résister à la dessication (Jawad et al., 1998; Maragakis et al., 2008) et à former des biofilms (Rodríguez-Baño et al., 2008). Ainsi, dans certains services de réanimation, *A. baumannii* peut représenter jusqu'à 20% des infections nosocomiales avec une mortalité pouvant dépasser 40% selon le pays et le type d'infection (Thomsen et al., 2024).

Parallèlement à l'augmentation de la résistance aux ATB, on observe une augmentation de la fréquence et de l'ampleur des épidémies. Dans les régions où la résistance aux carbapénèmes est élevée les taux d'isolement clinique et les risques épidémiques sont augmentés. En effet ces souches ont une forte aptitude à se propager rapidement entre les patients, via leur environnement clinique, propagation facilitée par leurs mécanismes de survie et d'adaptation (formation de biofilm, résistance aux désinfectants et à la dessication) (Huang et al., 2024; Nasr, 2020). Ces caractéristiques vont permettre la dissémination et l'adaptation à l'environnement hospitalier des souches MDR, conférant à *A. baumannii* un pouvoir épidémiogène fort la rendant responsable d'épidémies nosocomiales difficiles à contrôler (Ma & Mcclean, 2021; Maragakis et al., 2008; Thomsen et al., 2024). De ce fait, en seulement deux décennies, *Acinetobacter* est devenu un pathogène majeur à l'origine d'épidémies hospitalières difficiles à endiguer (Gonzalez-Villoria & Valverde-Garduno, 2016).

I.3. **Distribution des souches de *A. baumannii***

I.3.1. Les clones mondiaux 1, 2 et 3

Chez *A. baumannii,* les isolats cliniques appartiennent habituellement à l'une des trois lignées clonales principales connues désormais sous l'appellation clones mondiaux ou global clone 1, 2 et 3 (GC1, GC2 et GC3) (Diancourt et al., 2010; Hamidian & Hall, 2018; van Dessel et al.,

Licence CC BY-NC-ND 4.0

2004). C'est Dijkshoorn et ses collègues qui, dans les années 1990, ont caractérisés les clones GC1 et GC2 à partir d'isolats de *A. baumannii* d'Europe du Nord comprenant à la fois des souches épidémiques et des souches sporadiques. Enfin, en combinant différentes techniques d'identification phénotypique et génétique, les auteurs démontrèrent que ces deux grands clusters (GC1 et GC2) liaient entre eux les isolats cliniques épidémiques. Les isolats non-épidémiques, à l'inverse, étaient plus hétérogènes. (Dijkshoorn et al., 1996)

I.3.2. Les types de séquence (ST)

La méthode de typage bactérien la plus couramment utilisée est le MLST (Multi Locus Sequence Typing). Deux schéma MLST différents ont été proposés pour *A. baumannii* : le schéma Oxford (Bartual et al., 2005) et le schéma Pasteur (Diancourt et al., 2010). Ces deux schémas sont basés sur le séquençage de fragments internes de sept gènes du core-génome. Le schéma Oxford se base sur les gènes *gltA, gyrB, gdhB, recA, cpn60, gpi* et *rpoD* et partage 3 gènes communs avec le schéma Pasteur (*gltA, pyrG, fusA, recA, cpn60, rplB* et *rpoB*) (Bartual et al., 2005; Diancourt et al., 2010). Ainsi, pour chacun des gènes séquencés, un numéro d'allèle est attribué permettant d'obtenir un profil allélique auquel est attribué un numéro de Séquence Type (ST) de la base de données MLST (https://pubmlst.org/). Lorsqu'un profil allélique n'est pas connu dans la base de données, un nouveau numéro lui est attribué.
Plusieurs études ont mis en évidence que le schéma MLST Oxford possède un pouvoir discriminant supérieur par rapport au schéma Pasteur et permet de distinguer plus efficacement les souches proches. Le schéma Pasteur, quant à lui, va être préféré pour une classification précise des GC et pour la description de la structure de population à large échelle. (Gaiarsa et al., 2019; Hua et al., 2020)
Lors de l'étude de (Diancourt et al., 2010), les profils MLST de 154 souches ont été déterminés permettant ainsi d'évaluer les distances relatives entre différents ST et de définir des complexes clonaux (CC correspondant au regroupement de différents ST proches) (**Figure 3**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

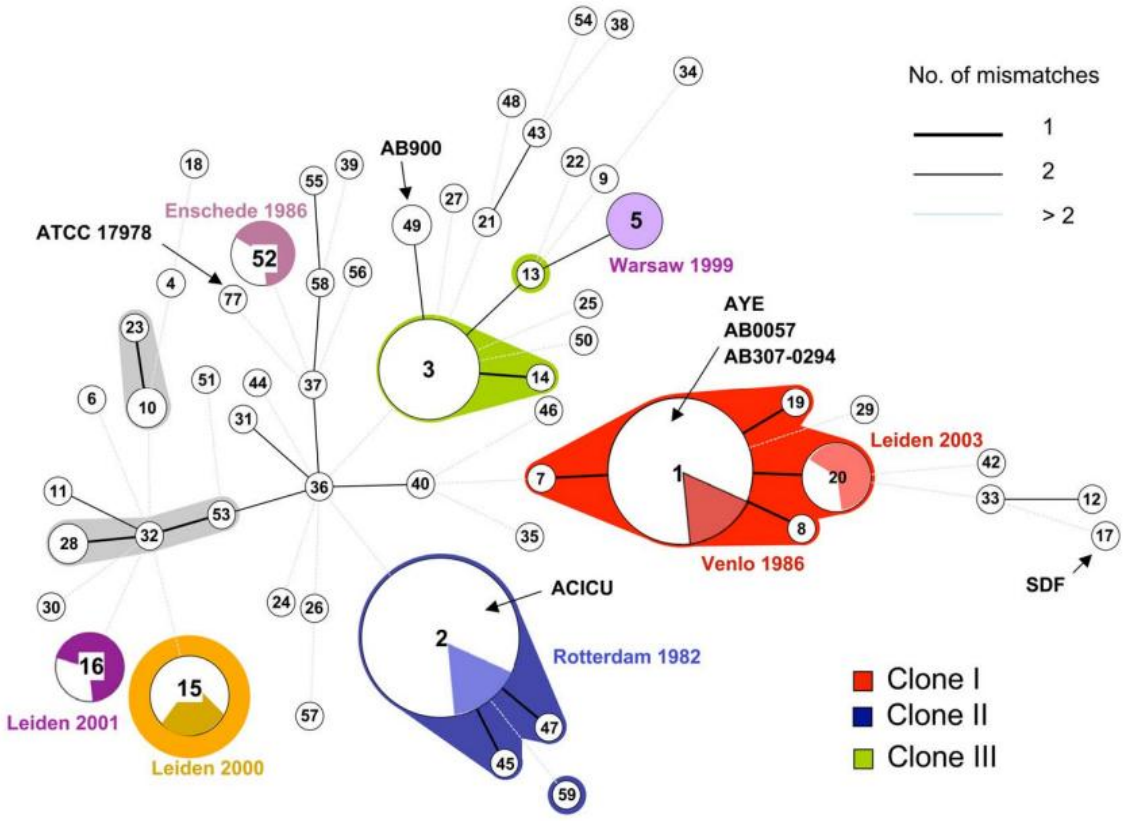


Figure 3 : Analyse par arbre du CC et du ST de 154 souches *de A. baumannii*

Le nombre de discordances alléliques entre les profils MLST a été utilisé comme distance. Ici chaque cercle correspond à un type de ST avec son numéro indiqué à l'intérieur. La taille des cercles augmente proportionnellement avec le nombre d'isolats possédant ce ST (de 1 à 33 pour le ST2). Les zones colorées ou grises entourant certains groupes de cercles indiquent que ces profils appartiennent au même CC, signifiant qu'ils présentent une seule discordance allélique avec au moins un autre membre du groupe. Les clones multirésistants CC1, CC2, CC3 et ST15 sont en couleurs (rouge, bleu, vert et orange respectivement). En gras sont indiqués sept souches de référence génomique. (Diancourt *et al.*, 2010)

Les 154 souches ont pu être regroupées en 59 ST (un même ST correspondant aux sept gènes identiques) et cinq complexes clonaux (Figure 3). Parmi les cinq CC, les CC1, 2 et 3 comportent les souches des GC1 à 3. Chaque CC est caractérisé par un ST prédominant à partir duquel ont évolués des variants.

C'est au sein des CC1 et CC2 (aussi appelé GC1 et GC2) que l'on retrouve l'essentiel des souches MDR (Post et al., 2010; Post & Hall, 2009). Le CC1 comprend principalement le ST1 mais aussi les ST7, 8, 19 et 20, alors que le CC2 contient les ST2, 45 et 47. Le ST59, bien que proche du CC2 n'en fait pas partie. Le CC3 regroupe l'ensemble des isolats du GC3, correspondant aux ST3 et ST14, à l'exception du ST13 qui diffère du ST3 par deux allèles. Enfin les deux derniers CC décrits, CC32 (regroupant les ST32, 28 et 53) et CC10 (dans lequel sont classés les ST10 et 23), sont proches génétiquement mais sont constitués de souches géographiquement éloignées montrant une forte propagation des souches même pour des isolats non-épidémiques. (Diancourt et al., 2010)

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Finalement le ST25, proche du ST3, a été décrit comme se propageant rapidement et pouvant être responsable d'épidémies dans différentes régions du monde telles que l'Europe, les Emirats Arabes Unis, l'Asie ou encore l'Amérique latine (Bonnin et al., 2012; Karah et al., 2011; Sonnevend et al., 2013; Stietz et al., 2013). De plus, la majorité des souches isolées appartenant à ce ST ont été classées comme MDR ou XDR (Sahl et al., 2015). D'autre part, des souches du ST25 résistantes aux carbapénèmes ont été isolées d'animaux de compagnie (Lupo et al., 2017), ce qui n'avait été rapporté jusque-là que pour des souches du ST2 (Al Bayssari et al., 2015; Pomba et al., 2014).

I.4. Epidémiologie de *Acinetobacter spp* selon le concept One-Health

I.4.1. Chez l'Homme

Chez l'Homme, un certain nombre d'espèces peuvent coloniser la peau et les muqueuses (Seifert et al., 1997). Bien que la majorité de ces espèces ne soient que peu pathogènes pour les personnes immunocompétentes, elles peuvent représenter un sérieux risque pour les patients fragiles, notamment en milieu hospitalier.

A. baumannii est l'espèce la plus fréquemment isolée dans les cas d'infections humaines représentant près de 60% des isolats, et est responsable de la majorité des infections nosocomiales graves (Lasarte-Monterrubio et al., 2024; Wisplinghoff et al., 2012). Cependant, d'autres espèces telles que *A. nosocomialis* et *A. pittii* (appartenant aussi au complexe *Acb*) sont de plus en plus reconnues comme agents pathogènes, même si leur prévalence reste inférieure à celle de *A. baumannii* (Chusri et al., 2014; Y.-M. Liu et al., 2017; Wisplinghoff et al., 2012). Enfin, bien que plus rarement impliqué dans les infections humaines, *A. ursingii*, est devenu un pathogène émergent principalement responsable de bactériémies (Chiu et al., 2015; Daniel et al., 2021; Loubinoux et al., 2003).

La transmission de ces espèces se fait principalement par contact direct ou indirect (mains du personnel, matériel médical ou encore par l'environnement contaminé) dans le cadre hospitalier, mais des infections communautaires sont possibles notamment dans les régions tropicales et chez les patients présentant des comorbidités (Falagas et al., 2007; Fournier et al., 2006; Visca et al., 2011). Les facteurs de risque, dans le cas des infections associées aux soins, incluent : l'hospitalisation prolongée, la ventilation mécanique, les cathéters, l'exposition aux ATB à large spectre d'action et la sévérité de la maladie. Cependant, la prévalence des infections à *Acinetobacter spp*. varie selon le type de service avec une plus forte prévalence dans les services de réanimation, de grands brûlés et en chirurgie. (Protic et al., 2016; Reina et al., 2022; Sieniawski et al., 2013)

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.4.2. Chez les animaux

Les isolats retrouvés chez les animaux présentent une grande diversité génétique et sont, le plus souvent, distincts des souches humaines. Cependant il existe des souches partagées soulevant des inquiétudes face au potentiel zoonotique, ainsi qu'au rôle des animaux en tant que réservoirs de souches MDR (Shaker et al., 2025; van der Kolk et al., 2019).

Tout comme en médecine humaine, la plupart des infections décrites jusqu'à présent en médecine vétérinaire sont causées par *A. baumannii*. Toutefois des cas d'infections par les espèces *A. variabilis, A. indicus*-like, *A. radioresistens* ou encore *A. pittii* ont été décrites avec des souches présentant des profils de multirésistance (Kimura et al., 2017; Klotz et al., 2017; Poirel et al., 2010; Smet et al., 2012; Wang et al., 2012). Néanmoins, il faut prendre en considération que les études portant sur la proportion des espèces non-*baumannii* retrouvées chez les animaux sont peu nombreuses et que les animaux de compagnies sont considérés comme porteurs sain de *Acinetobacter* (Belmonte et al., 2014). En effet, *A. baumannii* a été isolé à partir de prélèvements nasals et de fèces d'animaux d'élevage tels que les bovins et les porcins (Al Bayssari et al., 2015; Webb et al., 2016).

Contrairement à ce qui est rapporté en médecine humaine, *A. baumannii* n'est pas encore considéré comme un germe fortement pathogène dans le monde animal. Cependant l'augmentation du nombre d'infections par des souches MDR et sa capacité, tout comme chez l'humain, à se disséminer rapidement, pourrait commencer à être problématique surtout au sein des structures hospitalières vétérinaires. En effet, à l'instar de la médecine humaine, le matériel médical est une source majeure de contamination (Francey et al., 2000; Vaneechoutte et al., 2000).

I.4.3. Dans l'environnement

Dans l'environnement les souches de *Acinetobacter spp*. sont ubiquistes. Elles sont fréquemment isolées dans le sol, l'eau douce, les eaux usées ainsi que sur les surfaces inertes, en particulier dans les environnements humides. De plus, il est décrit que la distribution de *A. baumannii*, plus spécifiquement, est influencée par des facteurs climatiques avec une prédilection pour les climats chauds et humides et une prévalence accrue dans certaines régions telles que l'Asie du Sud, l'Europe du Sud ou encore l'Amérique du Sud (Benoit et al., 2024; Sabour, 2023).

Une étude de grande ampleur effectuée en 2016 par Al Atrouni et collaborateurs a mis en évidence la présence de *Acinetobacter spp*. dans 14% des échantillons environnementaux et 8 % des échantillons d'origine alimentaire confirmant ainsi leur distribution en dehors du milieu hospitalier (Al Atrouni, Hamze, et al., 2016). De plus, les espèces du complexe *Acb* sont régulièrement isolées dans les systèmes aquatiques tels que les eaux usées, suggérant un

Licence CC BY-NC-ND 4.0

rôle potentiel de ces milieux comme réservoirs pour la dissémination de souches pathogènes et/ou résistantes (Benoit et al., 2024).

Ainsi les *Acinetobacter spp*. sont des bactéries ubiquistes dont la présence a été mise en évidence aussi bien chez l'Homme que chez les animaux et dans l'environnement (Castillo-Ramírez et al., 2025). De ce fait, l'approche One-Health, qui met en avant une interconnexion entre santé humaine, animale et environnementale, semble nécessaire pour mieux comprendre mais aussi contrôler l'émergence, la diffusion et la persistance de souches pathogènes et multirésistantes de *Acinetobacter spp.* entre ces différents compartiments. En effet les échanges de gène de résistances aux antibiotiques (GRA) entre les isolats de *Acinetobacter spp.* animaux ou environnementaux avec des pathogènes humains, ou encore l'apparition de maladies animales causées par des clones hospitaliers (zooanthroponoses) souligne l'importance de la mise en place d'une approche globale et intégrée One-Health (Castillo-Ramírez, 2022, 2023).

I.5. Diversité génétique et transformation naturelle chez *Acinetobacter baumannii*

La transformation naturelle joue un rôle clé dans l'évolution et l'adaptation des bactéries du genre *Acinetobacter* et en particulier chez *A. baumannii* en facilitant l'acquisition de nouveaux GRAs. Cependant, la proportion de souches de *Acinetobacter spp*. capables de transformation naturelle varie selon les espèces et les isolats. Une étude effectuée en 2024, utilisant une méthode de transformation naturelle en milieu gélosé a montré que près de 62% des souches de *A. baumannii* testées étaient naturellement transformables (Mazzamurro et al., 2024). En revanche, chez certaines autres espèces du genre, telle que *A. baylyi*, la proportion des souches naturellement transformables est plus élevée pouvant atteindre 50% (Vaneechoutte et al., 2006).

I.5.1. Rôle de la transformation naturelle

Il existe deux hypothèses principales sur le rôle de la transformation naturelle, comme source de nouveaux gènes mais aussi comme mécansime de « nettoyage chromosomique » permettant l'élimination des EGM délétères pour la cellule (Rocha, 2016). C'est dû à cette première hypothèse que la transformation naturelle a été définie comme un mode de transfert horizontal de gène (THG) ce qui en fait un mécanisme particulièrement important dans l'adaptabilité des bactéries à leur environnement. Ainsi chez *Acinetobacter*, cette capacité de transformation naturelle va permettre à la bactérie d'acquérir des GRAs notamment aux carbapénèmes et d'autres ATBs de dernier recours (Godeux et al., 2018; Vesel et al., 2023).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.5.2. Le mécanisme de transformation naturelle

La transformation naturelle dépend de la compétence, un état physiologique permettant l'import d'ADN extra-cellulaire et implique de nombreux gènes. Une étude récente effectuée par Hu et collaborateurs (2022), a permis de mettre en évidence 28 gènes qui semblent être essentiels pour la transformation chez *A. baumannii* (**Figure 4**) (Hu et al., 2022).

Parmi ces gènes, on retrouve des gènes codant pour la biogenèse des pili de type 4 (T4P) tels que *pilA, pilB, pilC, pilD*, etc. Ces gènes codent pour les sous-unités structurales, les ATPases, les protéines d'assemblage et les protéines associées aux pili, essentielles à la formation du pilus permettant la capture de l'ADN (Hu et al., 2022; Vesel et al., 2023). On retrouve aussi des gènes permettant la translocation et le traitement de l'ADN tels que les gènes *comEA, comEC, comA, dprA, recA* et *priA* qui participent à la liaison, l'importation ou encore l'intégration de l'ADN exogène dans la cellule. Mais aussi des régulateurs et des facteurs spécifiques comme *crp* (régulateur de la compétence), *tsaP* (protéine périplasmique impliquée dans l'assemblage du T4P), *tonB2* (impliqué dans l'assemblage du pilus et la translocation de l'ADN) et *xcpV*/ *xcpW* (pseudopilines du système de sécrétion de type II jouant un rôle majeur dans l'intégration de l'ADN) (Hu et al., 2022).

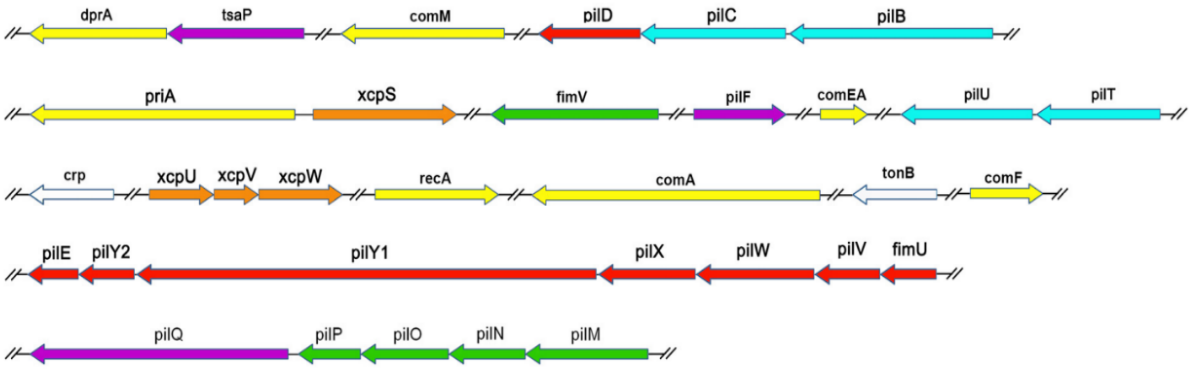


Figure 4 : Organisation génétique des homologues liés à la transformation décrits chez la souche *A. baumannii* communautaire D1279779

Chaque gène est coloré en fonction de la fonction de la protéine codée : violet, sous-complexe de sécrétine de la membrane externe du pilus de type 4 (T4P) ; vert, sous complexe d'alignement du T4P ; bleu, sous-complexe moteur du T4P ; rouge, lié au filament hélicoïdal du T4P ; blanc, régulateur ; jaune, absorption et traitement de l'ADN ; orange, sécrétion de type II. Les sauts de ligne (//) indiquent une organisation génomique non contiguë (tiré de Hu, Zheng, et Zhang 2022).

L'un des gènes de compétence le plus connu est le gène *comM* codant pour une hélicase et qui aurait un rôle dans le mécanisme de transformation naturelle en facilitant l'intégration de l'ADNsb (ADN simple brin) dans le chromosome bactérien. Ainsi, il a été démontré qu'en l'absence de l'activité de ComM, la capacité d'acquisition d'ADN extra-cellulaire chez *V. cholerae* et chez *A. baylyi* est réduite (Nero et al., 2018). Chez la grande majorité des souches

Licence CC BY-NC-ND 4.0

de *A. baumannii* cliniques portant un AbaR (pour *Acinetobacter baumannii* Resistance Island, décrits dans le paragraphe I.6.3.1.), le gène *comM* est interrompu par l'insertion de l'AbaR réduisant fortement leur capacité de transformation naturelle. L'inactivation de *comM* par l'insertion d'AbaR entraîne une stabilisation de l'îlot de résistance au sein du génome bactérien ; en effet la perte de la capacité de transformation naturelle limiterait la possibilité des bactéries à éliminer ces éléments génétiques par recombinaison, favorisant alors la persistance de la multirésistance (Godeux et al., 2020). En revanche les souches naturellement compétentes, comme la souche A118 isolée d'une hémoculture, possèdent généralement un gène *comM* intact expliquant leur forte capacité de transformation (Perez & Stiefel, 2022; Ramirez et al., 2011).

I.6. La multirésistance chez le genre *Acinetobacter*

Certaines espèces de *Acinetobacter spp*., et en particulier *A. baumannii*, sont devenues des pathogènes nosocomiaux majeurs, pouvant être responsables d'infections graves (Garnacho-Montero & Amaya-Villar, 2010; Ibrahim et al., 2021; Van Looveren et al., 2004). Chez *A. baumannii*, l'émergence de la résistance concorde avec le début de l'utilisation d'ATBs, en médecine humaine, de manière intensive (Diancourt et al., 2010). Ces bactéries possèdent notamment une grande capacité à acquérir et accumuler des GRAs rendant la prise en charge thérapeutique des patients infectés de plus en plus difficile (Clark et al., 2016; Ibrahim et al., 2021).

I.6.1. Evolution de la résistance aux antibiotiques

Les premières souches résistantes ont été détectées dès le début des années 1970 (Roy et al., 2022) (**Figure 5**).

Ces premiers cas décrits présentaient des résistances aux sulfamides, β-lactames et aminoglycosides, ATBs largement utilisés en clinique à cette époque. À la fin des années 1980, les premières souches résistantes aux quinolones ont été isolées. Puis, en 1985, les premières résistances aux carbapénèmes ont été décrites chez des souches de *A. baumannii* (Paton et al., 1993), soit la même année que la première Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) de l'imipenème (IPM) délivrée par la Food and Drug Administration (FDA) américaine. Quelques années plus tard, en 1999, les premières souches appartenant au complexe *Acb* résistantes à la colistine ont été isolées (peu de temps après sa réintroduction en médecine humaine en 1995 en tant qu'ATB de dernier recours pour le traitement d'infections nosocomiales causées par des bactéries MDR) (Castanheira et al., 2023). Enfin en 2007, le

Licence CC BY-NC-ND 4.0

premier isolat résistant à la tigécycline était rapporté soit seulement deux ans après sa première AMM.

Plus spécifiquement, la proportion de souches *CRAb* dans les infections est très hétérogène selon les régions du monde allant moins de 1% en Amérique du Nord à plus de 40% dans

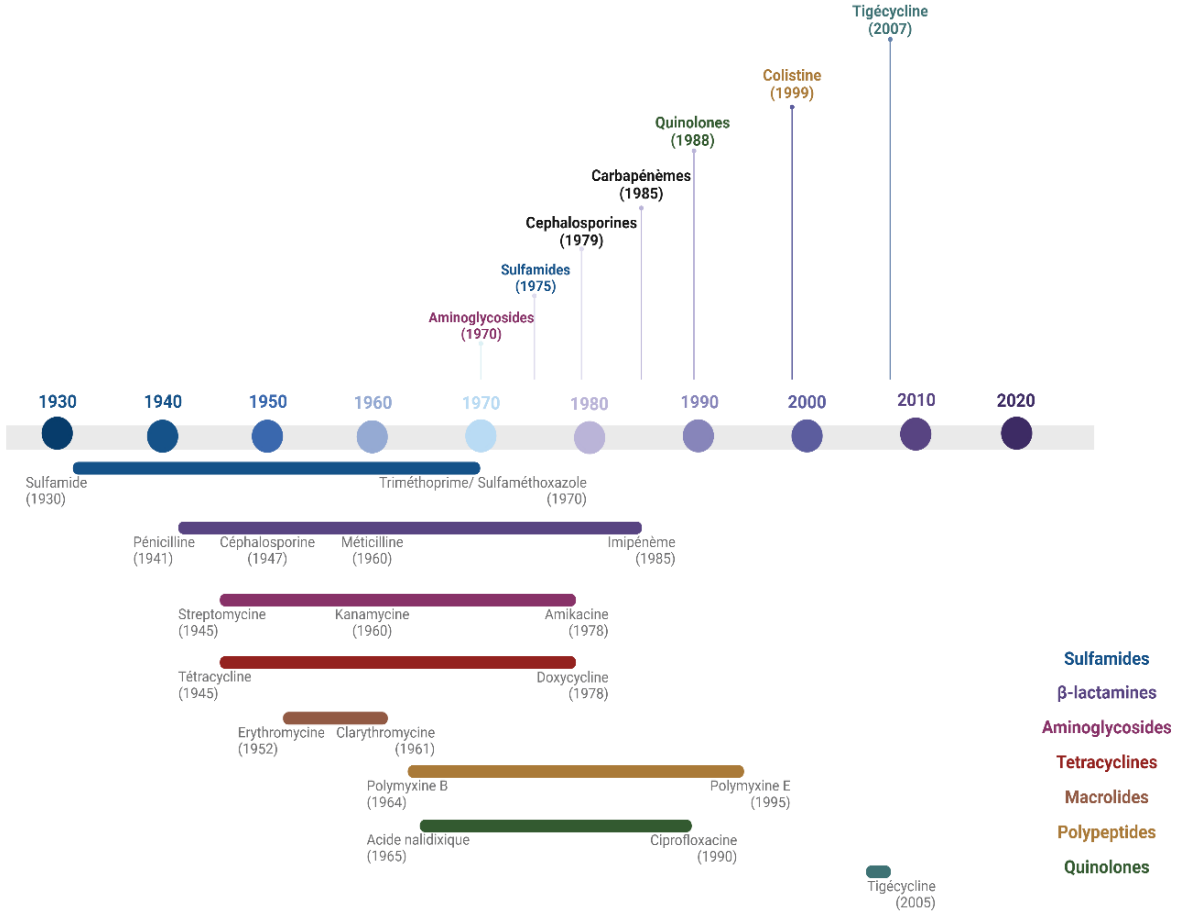


Figure 5 : Evolution de la résistance chez *A. baumannii*

La partie inférieure indique l'année approximative de l'introduction des antimicrobiens sur le marché, les lignes colorées indiquant les différents groupes d'antimicrobiens. Sur la partie supérieure est notée l'année du premier rapport de résistance aux antimicrobiens (adapté de (Roy *et al.* 2022). Créée sur https://BioRender.com

certains pays d'Asie (**Figure 6**). En Europe, le taux d'isolement en clinique varie, avec une prévalence plus faible en Europe de l'Ouest par rapport à l'Europe de l'Est. Parmi ces infections, la part des souches multi-résistantes est, elle aussi, variable selon les pays avec une prévalence mondiale d'environ 80% en ce qui concerne les infections respiratoires associées aux soins telles que les pneumonies associées à la ventilation mécanique (Ayoub Moubareck & Hammoudi Halat, 2020; Mohd Sazlly Lim et al., 2019a) (European Centre for Disease Prevention and Control. 2024).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

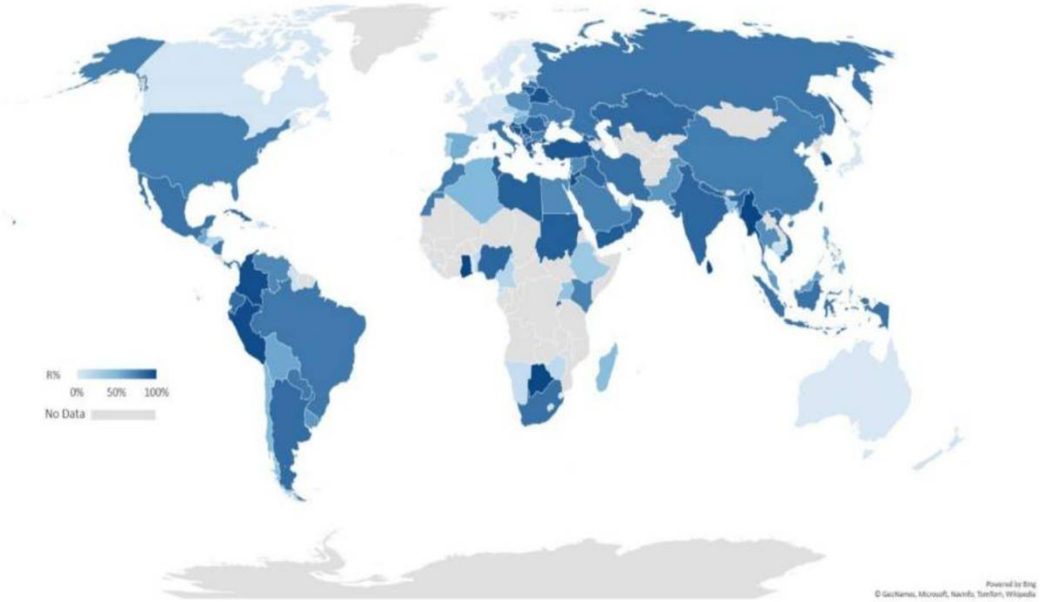


Figure 6 : Pourcentage global de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*

Les différentes nuances de bleu représentent le niveau de résistance aux carbapénèmes dans le monde durant la dernière décennie. Pour les zones en gris, aucune donnée de surveillance ou de recherche n'est disponible (tirée de Ma et Mcclean 2021).

I.6.2. Les mécanismes de résistance et les traitements

La résistance aux ATB chez le genre *Acinetobacter* repose sur une combinaison de mécanismes enzymatiques, de modifications structurales et génétiques, et d'adaptation communautaires (capacité à survivre, à s'adapter génétiquement, à échanger des gènes et à former des biofilms) expliquant ainsi la fréquence élevée des souches multirésistantes au sein de ce genre. Le lien entre adaptation communautaire et multirésistance repose sur la grande capacité d'adaptation et de persistance de cette bactérie dans divers environnements, notamment les milieux extrahospitaliers, favorisant sa propagation (Antunes et al., 2014; Eijkelkamp et al., 2014). Ces différents mécanismes seront détaillés dans les prochains paragraphes ainsi que sur la **Figure 7**.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

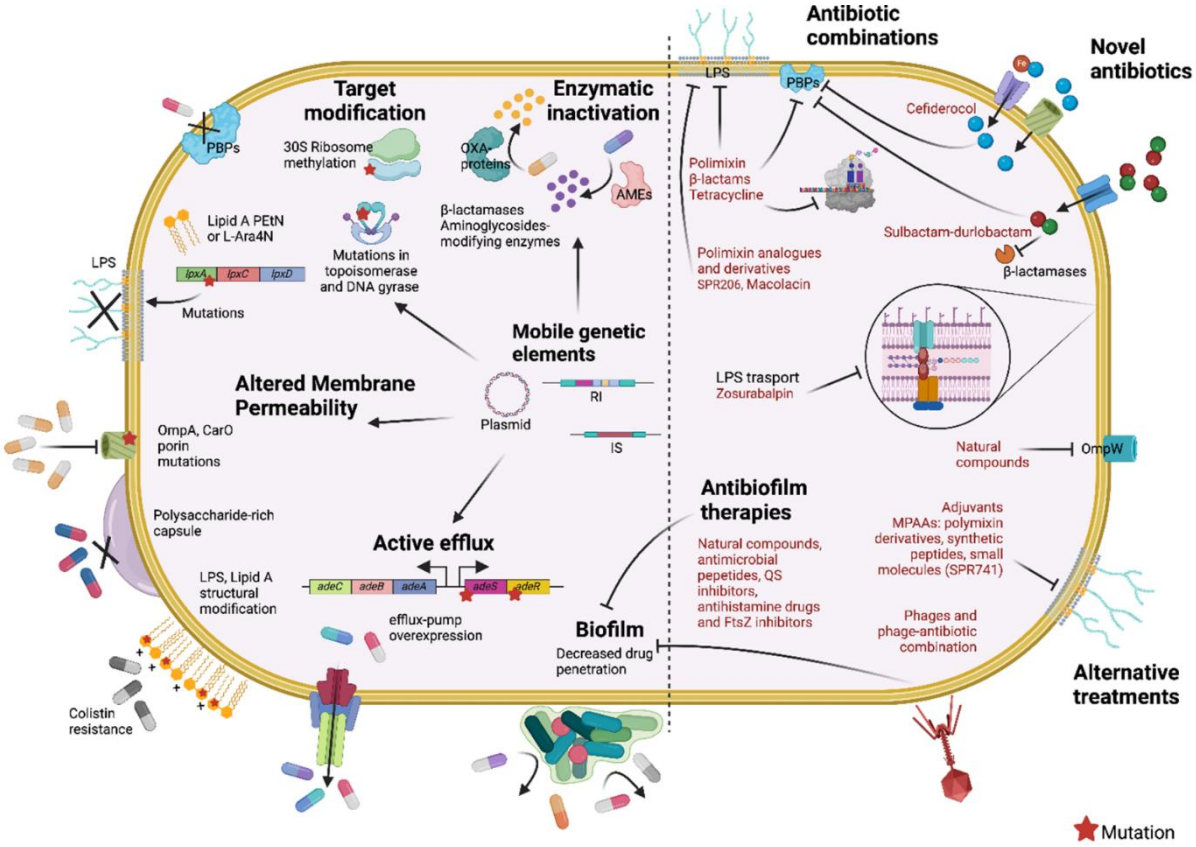


Figure 7 : Schéma récapitulatif des mécanismes de résistances aux antibiotiques chez *A. baumannii* et les possibles thérapeutiques alternatives

Sur la gauche de la figure sont regroupés les différents mécanismes de résistances ainsi que les éléments génétiques mobiles et à droite les thérapies possibles.

adeABC et *adeSR* : gènes et régulateurs de la pompe à efflux ; AME : enzymes modifiant les aminoglycosides ; OXA : carbapénèmases ; CarO : protéine de la membrane externe associée à la résistance aux carbapénèmes ; OmpA : protéine A de la membrane externe ; IS : séquences d'insertions ; RI : îlots de résistances ; lpxACD :gènes codant des protéines biosynthétiques du lipide A. (Scoffone *et al.* 2025)

I.6.2.1. *L'inactivation enzymatique*

La production d'enzymes inactivatrices telles que les β-lactamases, est l'un des mécanismes principaux de résistance chez *A. baumanniii* et contribue ainsi à la multirésistance. En effet *A. baumannii* produit des β-lactamases et peut acquérir des β-lactamases à spectre élargi (BLSE) et des carbapénèmases de type OXA ou métallo β-lactamase (NDM, VIM, IMP,…) responsables de la résistance aux céphalosporines et aux carbapénèmes (Hawkey et al., 2018). A ce jour, plus de 130 β-lactamases de type OXA ont été décrites chez *A. baumannii* représentant un sérieux défi dans la lutte contre les infections (Li et al., 2023). On retrouve aussi des enzymes modifiant les aminosides (AMEs pour Aminoglycoside-Modifying Enzymes) dont les gènes sont localisés sur des éléments génétiques mobiles (EGM) facilitant leur dissémination au sein des populations bactériennes (Lupo et al., 2018).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.6.2.2. *L'altération de la perméabilité membranaire*

La réduction de la perméabilité de la membrane entrave l'activité des ATBs hydrophiles tels que les β-lactames, les aminoglycoside et la tigécycline. Les modifications des porines telles que l'altération du niveau d'expression ou des changements structurels limitent l'absorption des ATBs (Magnet et al., 2001). De plus, les changements au niveau des lipides de la membrane externe peuvent altérer la charge et l'hydrophobicité de la membrane bloquant la diffusion des molécules. Le lipide A, en particulier, peut acquérir des modifications par THG pouvant altérer la fonction de barrière de la membrane en codant pour des enzymes capables de modifier sa structure (Pelletier et al., 2013). D'autre part, la grande majorité des souches de *A. baumannii* présentent une capsule dense et riche en polysaccharides qui fonctionne comme une barrière physique contre les ATBs nécessitant une interaction avec la membrane externe tels que les aminoglycosides (Akoolo et al., 2022). Au sein de isolats cliniques, la proportion de *A. baumannii* possédant une capsule est proche de 90% soulignant son importance dans la pathogénicité de cette bactérie (Geisinger & Isberg, 2015; Singh et al., 2019).

I.6.2.3. *Les systèmes d'efflux actifs*

Au sein de *A. baumannii*, trois pompes d'efflux de la famille RND (Resistance-Nodulation-Division), AdeABC, AdeFGH et AdeIJK, ainsi que la famille des pompes à efflux MATE (multi-antimicrobial and toxic compund extrusion) sont sur-exprimées dû à des substitutions d'acides aminés au sein de leurs gènes régulateurs (Darby et al., 2023). Le système d'efflux le plus caractérisé est la pompe à efflux AdeABC, qui efflue une large variété d'ATBs tels que les fluoroquinolones, la tétracycline et le chloramphénicol (Magnet et al., 2001). L'insertion d'EGMs, tel que ISAba1, au sein du gènes *adeS* (système à deux composants AdeR-AdeS contrôlant l'expression de la pompe à efflux AdeABC) a été lié à l'augmentation de l'expression de *adeB*, un composant qui joue le rôle de transporteur multi-drogues (C. Liu et al., 2024).

I.6.2.4. *La modification des cibles*

Des modifications des cibles telles que des altérations au niveau des gènes codant pour la protéine de liaison aux pénicillines (modifications ou surexpression) réduisent l'affinité de liaison des β-lactamines pour leurs cibles. Ces modifications peuvent venir de mutations au sein des gènes codant pour les protéines de liaison aux pénicillines ou par l'acquisition de nouveaux gènes (Kyriakidis et al., 2021). De plus, la modification structurale du lipide A est le mécanisme primaire de la résistance à la colistine chez *A. baumannii*. (Sun et al., 2020).

I.6.2.5. *La formation de biofilm*

Il est connu que la formation de biofilm contribue à la persistance et à la résistance chez les bactéries. Ainsi la dose d'ATB nécessaires pour éradiquer les bactéries lorsqu'elles forment un biofilm peut être jusqu'à 1000 fois supérieure à celle utilisée pour les cultures planctoniques (Lysitsas et al., 2023). Chez *A. baumannii*, un certain nombre de gènes sont cruciaux pour

Licence CC BY-NC-ND 4.0

l'adhésion des cellules, la maturation du biofilm et sa stabilité structurale tels que *bap* (biofilm-associated protein), *ompA* (outer-membrane protein A), *csuE* (voie chaperon-usher) ou encore *pgaB* (impliqué dans la production de polysaccharides).

I.6.2.6. *L'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal de gènes*

Le THG joue un rôle central dans l'acquisition et la dissémination des GRAs chez les bactéries du genre *Acinetobacter*, et en particulier chez *A. baumannii*, en permettant l'acquisition de résistances multiples contribuant à l'émergence de souches MDR dans les milieux hospitaliers (Cooper et al., 2017; Da Silva & Domingues, 2016). Il existe trois principaux mécanismes de THG que sont : la conjugaison, la transformation et la transduction (**Figure 8**).

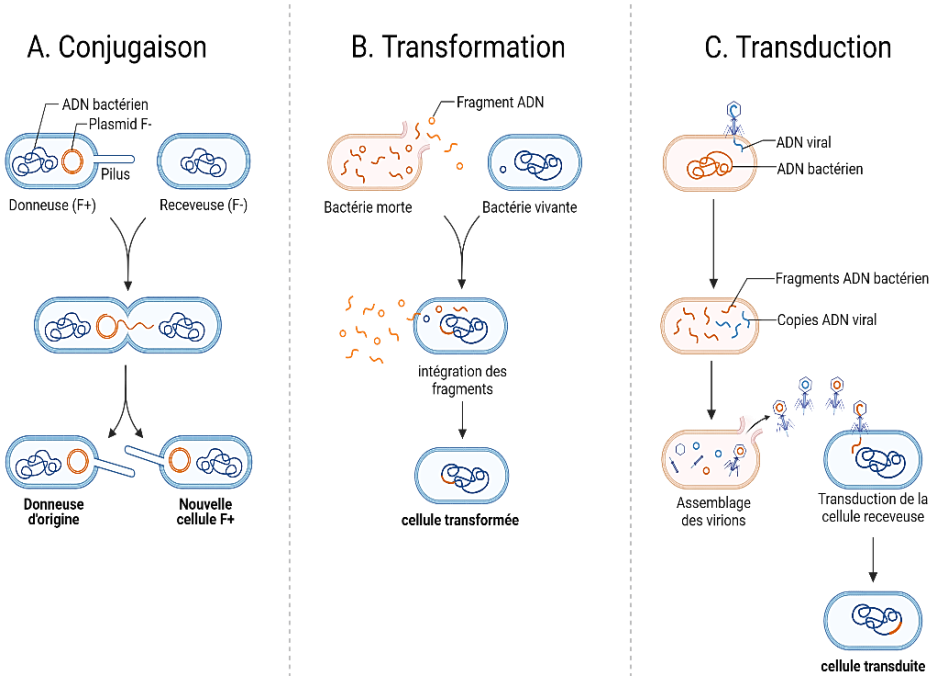


Figure 8 : Les mécanismes du transfert horizontal de gène

(A) La conjugaison est la formation d'un pilus par la bactérie donneuse permettant le transfert de l'ADN plasmidique vers la bactérie receveuse. (B) La transformation se fait par l'acquisition d'ADN, retrouvé dans le milieu extra-cellulaire, par une bactérie dite « compétente ». (C) La transduction se fait par l'encapsidation de l'ADN bactérien par un virion, lors de l'étape de lyse, qui va être transféré à une bactérie receveuse par le bactériophage (adapté de Gilbert *et al.* 2023). Créée sur https://BioRender.com

Parmi ces trois modes de transfert, la conjugaison est généralement considérée comme le plus important (Cabezón et al., 2015). Contrairement à la transduction et la transformation, la conjugaison nécessite un contact entre deux cellules permettant le transfert de l'ADN bactérien par l'intermédiaire de pilus de la cellule donneuse vers la cellule receveuse (Silverman, 1997).

La transformation (décrite plus en détail dans le paragraphe I.5.) correspond à l'intégration d'ADN extra-cellulaire par une bactérie receveuse (Johnston et al., 2014). Ce processus

Licence CC BY-NC-ND 4.0

requiert donc la présence de fragments d'ADN extra-cellulaires libres ainsi qu'une bactérie receveuse en état de compétence (Thomas & Nielsen, 2005), qui est défini par la capacité des bactéries à se lier à de l'ADN libre et n'est connu que dans un nombre limité de bactéries telles que *Haemophilus, Streptococcus* (Johnston et al., 2014) mais aussi *Acinetobacter* (Domingues et al., 2019).

Enfin, le mécanisme de transduction est un processus de recombinaison génétique dans lequel un bactériophage transfère de l'ADN bactérien d'une cellule donneuse vers une cellule receveuse. Ainsi, l'ADN bactérien est encapsidé par erreur lors du cycle lytique (transduction généralisée) ou provient de la région chromosomique adjacente au prophage dû a une excision fautive (transduction spécialisée), puis est injecté dans une nouvelle bactérie lors de l'infection suivante (Chiang et al., 2019; Zinder & Lederberg, 1952). C'est un moyen fiable de transférer de l'ADN entre bactéries car l'ADN étranger, encapsidé dans les bactériophages, est protégé de la dégradation physique ainsi que des DNAses présentent dans l'environnement.

I.6.2.7. *Les traitements*

L'augmentation de la prévalence des souches de *A. baumannii* MDR a poussé les chercheurs à explorer des stratégies thérapeutiques alternatives.

Actuellement, le traitement des infections à CRA*b* se fait par l'utilisation de la colistine, la polymyxine B, la tigécycline et parfois la minocycline. Toutefois leur utilisation reste limitée du fait de leur toxicité (colistine), de leur faible diffusion pulmonaire (colistine, tigécycline) et l'émergence rapide de résistance (Arshad et al., 2025; Naseef Pathoor et al., 2025). De ce fait, la recherche et le développement de nouveaux ATBs sont devenus une priorité. C'est dans cette lancée que de nouvelles molécules ont été récemment mises sur le marché. Parmi elles, le cefidérocol, une céphalosporine de nouvelle génération active contre les souches de CRA*b* et dont l'efficacité a été démontrée dans plusieurs essais cliniques (Arshad et al., 2025; Scoffone et al., 2025). Face à la résistance croissante de *A. baumannii aux* ATBs dit « de dernier recours » et au risque de sélection et de propagation des souches CRA*b*, les combinaisons d'ATBs synergiques présentent aussi une solution potentielle améliorant l'efficacité des thérapies existantes et en réduisant les risques d'infection. Ainsi l'association sulbactam-durlobactam (sulbactam et un inhibiteur de β-lactamase) qui cible spécifiquement les souches CRA*b*, a démontré une meilleure activité que la colistine dans les essais cliniques récents et a été approuvée pour le traitement des infections à *A. baumannii* MDR (Arshad et al., 2025).

Plusieurs molécules non-ATB et approches innovantes sont aussi en développement afin d'essayer de contrer l'augmentation rapide de la résistance de *A. baumanni*. Entre autres, les combinaisons thérapeutiques (association d'ATBs classiques ou de molécules innovantes

Licence CC BY-NC-ND 4.0

telles que le céfidérocol, un ATB de nouvelle génération utilisant les sidérophores pour pénétrer au sein de la bactérie ou encore l'eravacycline, une tétracycline de nouvelle génération, (Jackson et al., 2024; Soriano & Mensa, 2022)), le développement d'une nouvelle classe d'ATB, dérivés des peptides macrocycliques, comprenant la zosurabalpin (Zampaloni et al., 2024), l'immunothérapie passive (anticorps monoclonaux), la vaccination (recherche sur les protéines d'adhésion) (Pereira & Hartwig, 2025) ou encore les peptides antimicrobiens (tel que TP4-3 utilisé seul ou en combinaison avec des ATBs) (Yeh et al., 2025), ouvrent la voie à de nouvelles thérapies prometteuses et une diminution du risque d'émergence de la résistance (Scoffone et al., 2025).

I.6.3. Les îlots de résistance

Les îlots de résistance (ou RI pour Resistance Islands) sont des segments d'ADN acquis par transfert horizontal et intégrés au sein du chromosome. Ils sont retrouvés chez les espèces du genre *Acinetobacter*, principalement chez *A. baumannii*, et contiennent de multiples GRAs. Ces îlots jouent un rôle central dans l'émergence et la dissémination de la multirésistance. Il existe trois principaux types de RI : les AbaR, les AbGRI (*Acinetobacter baumannii* Genomic Resistance Islands) et les îlots de pathogénicité.

I.6.3.1. *Les AbaR*

Les RI AbaR sont de grands segments d'ADN intégrés dans le chromosome, généralement au niveau du gène *comM* et qui comportent de multiples GRAs et parfois même des gènes de résistance aux métaux lourds (Hamidian et al., 2015; Krizova et al., 2011). L'îlot ancestral, nommé AbaR0, a été décrit pour la première fois dans le clone mondial 1 (GC1) dans les années 1970 et a depuis évolué en de nombreux variants par acquisition, délétion et recombinaison (souvent médiées par l'*IS*26) de modules génétiques (Post et al., 2010). Les AbaR sont composés de transposons, d'intégrons de classe 1, de séquences d'insertion, de GRAs à plusieurs familles d'ATB (aminoglycosides, β-lactamines, tétracyclines, sulfamides et parfois de gènes de résistance à l'arsenic, au mercure ou encore au cadmium) (Hamidian et al., 2015; Krizova et al., 2011; Seputiene et al., 2012).

Par la suite de nombreux variants d'AbaR ont été décrits avec des tailles et des compositions variables selon les souches et le clone épidémique dans lequel ils ont été localisés (GC1 ou GC2) (Kim et al., 2013; Krizova et al., 2011; Seputiene et al., 2012) **(Figure 9**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

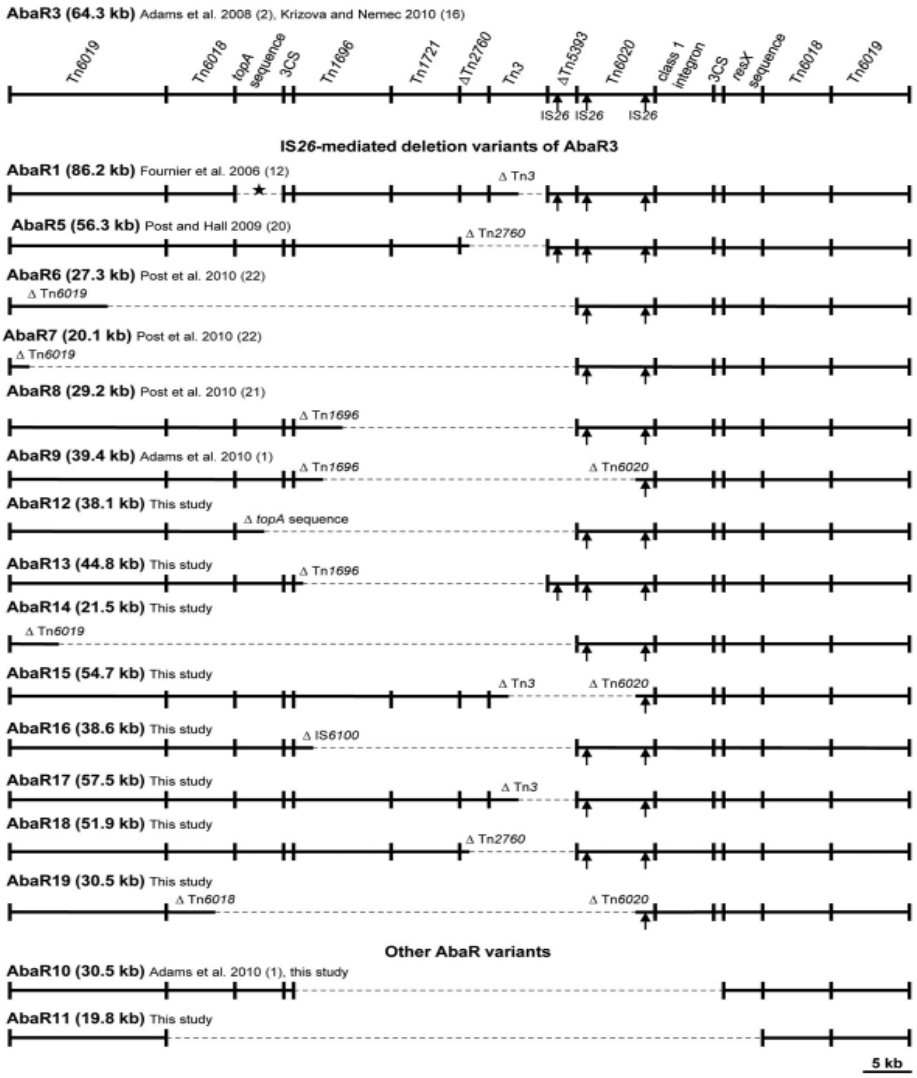


Figure 9 : Vue d'ensemble schématique des différents variants d'AbaR retrouvés au sein du GC1

Sous la représentation de AbaR3 (plus grand îlot de cette étude) sont alignés les autres AbaR avec en traits pleins les régions homologues avec AbaR3 et en traits pointillés les régions absentes. Les lignes verticales délimitent les composants de AbaR3 et les flèches, les positions des trois copies de *IS*26 présentes dans AbaR3. La localisation de la séquence spécifique de 29 Kb de AbaR1 est indiquée par un astérisque. A l'exception de la région portant l'intégron de classe 1, la taille individuelle des AbaRs est proportionnelle à l'échelle. (Krizova, Dijkshoorn, et Nemec 2011).

Dû à leur composition les AbaR jouent un rôle clé dans la multirésistance chez *A. baumannii* en permettant l'acquisition et l'expression de multiples GRAs. De plus, l'insertion des AbaR, dans le gène *comM* (gène impliqué dans la capacité de transformation naturelle de *A. baumannii)* entraîne, comme indiqué précédemment, une réduction de la capacité de transformation naturelle de la bactérie. Corroborant cela, il a été décrit par Godeux et collaborateurs, que la délétion (expérimentale) d'AbaR restaurait la sensibilité à plusieurs ATBs et la capacité de transformation des souches (Godeux et al., 2020).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.6.3.2. *Les AbGRIs*

Les AbGRIs sont des éléments génétiques impliqués dans la multirésistance aux ATBs chez *A. baumannii* et en particulier au sein des clones GC2 (Kyriakidis et al., 2021; Naderi, Asadian, Seifi, et al., 2023).

Tout comme les AbaRs, ce sont des segments d'ADN chromosomiques regroupant des transposons, des intégrons, des séquences d'insertion et de multiples GRAs pouvant coder pour des résistances à des ATBs « anciens » (tétracycline, aminoglycosides, sulfamides) et « récents » (carbapénèmes, β-lactamines) (Naderi, Asadian, Seifi, et al., 2023).

De nos jours 5 sous-types d'îlots ont été identifiés, nommés AbGRI1 à AbGRI5.

Les AbGRI1 à AbGRI4 sont principalement retrouvés au sein des souches de GC2 de *A. baumannii*. AbGRI1, tout comme les AbaR, est généralement retrouvé inséré au niveau du gène *comM* et possède une structure composée de transposons (tels que *Tn6022* ou *Tn6022*∆), d'intégrons et de GRAs (Hamidian et al., 2015) (**Figure 10)**. AbGRI2 est caractérisé par la présence de multiples GRAs souvent encadrés par des séquences d'insertion *IS*26 (**Figure 11**) (Blackwell et al., 2016). AbGRI2 coexiste fréquemment avec d'autres RIs tels que AbGRI1 et AbGRI3 contribuant ainsi à la multirésistance (Hamed et al., 2022; Naderi, Asadian, Khaki, et al., 2023). AbGRI3 est le RI le plus souvent retrouvé au sein des isolats cliniques GC2 (Naderi, Asadian, Khaki, et al., 2023) **(Figure 12)**. Il est particulièrement associé au gène *armA* codant pour une résistance aux aminoglycosides mais peut également porter d'autres GRA (Blackwell et al., 2017). Enfin, AbGRI4 a été récemment identifié au sein de souches cliniques MDR appartenant notamment aux clones épidémiques ST2 (GC2) (Chan et al., 2020) (**Figure 13**). Le dernier RI du groupe est AbGRI5, retrouvé surtout dans des souches de *A. baumannii* MDR appartenant au GC1 (Hua et al., 2021) (**Figure 14**).

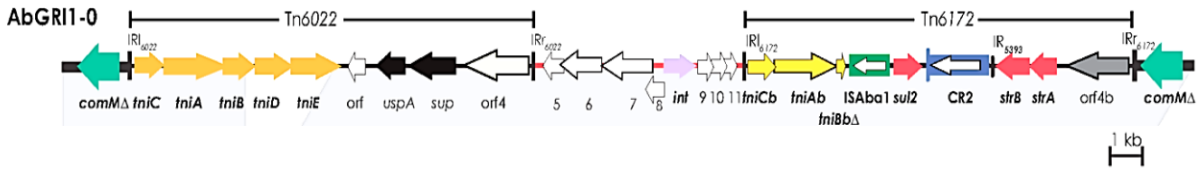


Figure 10 : représentation schématique de AbGRI1

Le chromosome est représenté en noir et le RI en rouge. Le gène *comM* est situé de part et d'autre de l'ilot. Les flèches représentent la taille et l'orientation des gènes ou ORF avec leur nom indiqué en dessous. Les GRAs sont indiqués en rouge. Sont indiqués sur la figure : les fragments de *Tn6022* et *Tn6172* ainsi que les séquences inversées répétées qui les encadrent, ISA*ba*1 et CR2 (région commune 2) avec le gène *tnp* (codant pour une transposase) indiqué par une flèche blanche. La figure est à l'échelle indiquée en dessous (Hamidian, Holt, et Hall 2015).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

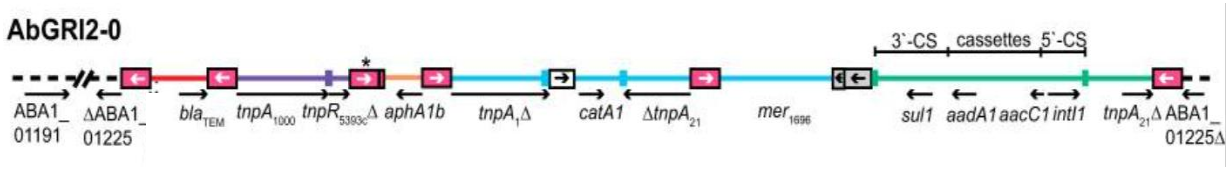


Figure 11 : Représentation schématique d'un AbGRI2

Le chromosome est représenté en noir pointillés et la séquence du RI en lignes colorées. Les flèches indiquent la taille et l'orientation des gènes. Les rectangles représentent les IS (*IS26* en rose, *IS1* en blanc et *IS6100* en gris) et la flèche blanche à l'intérieur l'orientation du gène *tnp*. Les séquences inversées répétées sont représentées par des lignes verticales. La ligne au-dessus indique un intégron de classe 1 (Blackwell, Nigro, et Hall 2016).

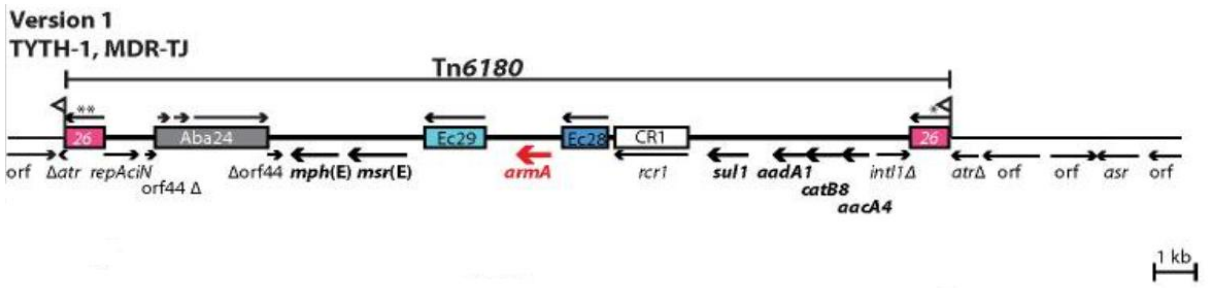


Figure 12 : Représentation schématique de AbGRI3

En dessous de l'indication du *Tn6180* se trouve le RI. Les flèches indiquent la taille et l'orientation des gènes avec les GRA indiqués en gras. Les rectangles représentent les IS et les CR (régions communes). Les flèches au-dessus de IS indiquent l'orientation du gène *tnp*. La représentation est à l'échelle indiquée (Blackwell *et al.* 2017).

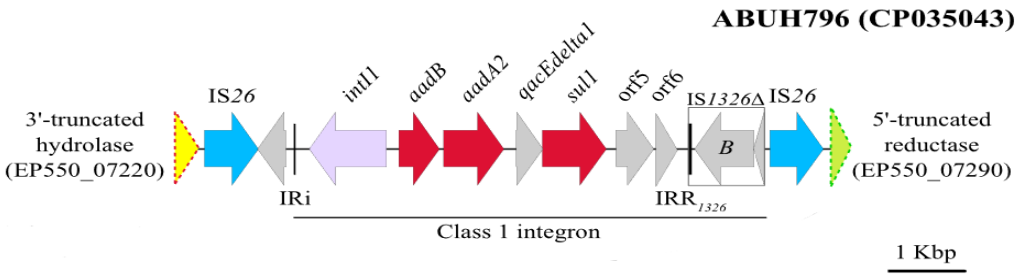


Figure 13 : Représentation schématique de AbGRI4

La flèche jaune représente le gène de l'hydrolase tronqué en 3' et la verte celui de la réductase tronquée en 5'. En rouge sont indiqués les GRA et en bleu *IS*26. La représentation est à l'échelle indiquée (Chan *et al.* 2020).

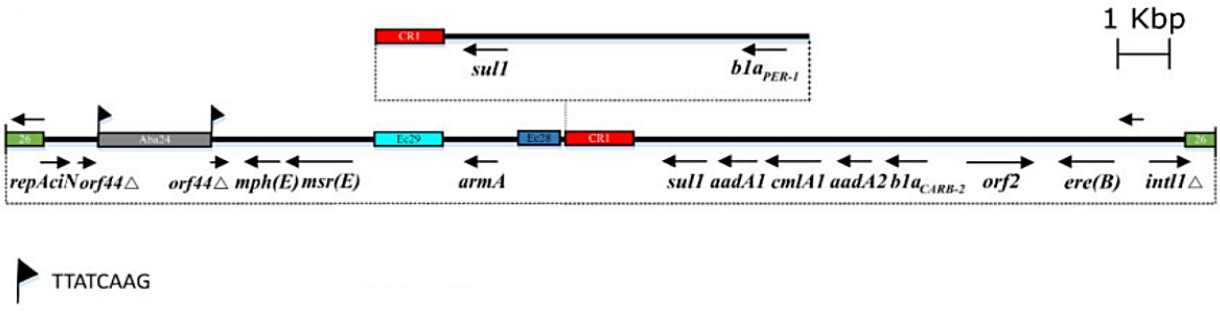


Figure 14 : Structure schématique de AbGRI5

Les IS26 sont représentées en vert, ISAba24 en gris, ISEc29 en cyan, ISEc28 en bleu et CR1 en rouge. Les flèches représentent la taille et l'orientation des gènes avec leur nom indiqué en dessous. La représentation est à l'échelle indiquée (Hua *et al.* 2021).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chapitre II. Les intégrons

II.1. Définition et structure des intégrons

C'est à la fin des années 80 que les chercheurs Hatch Stokes et Ruth Hall décrivent pour la première fois des éléments génétiques capables de capturer et d'exprimer des gènes sous forme de cassettes qu'ils baptisent « intégrons » (Stokes & Hall, 1989). Par la suite les intégrons ont été divisés en deux grandes familles :

- Les intégrons sédentaires chromosomiques (ISC), décrits pour la première fois chez *Vibro cholerae* (Mazel et al., 1998), pouvant contenir jusqu'à 200 cassettes de gènes (CG) codant, pour la plupart, des protéines de fonctions inconnues. Ils semblent constituer un réservoir de gènes pouvant permettre une aide adaptative aux bactéries et sont décrits comme source de diversité génomique (Hall, 2012; Mazel, 2006).
- Les intégrons mobiles (IM), aussi appelés intégrons de résistance, portés par des EGM tels que les plasmides ou les transposons. Ils sont caractérisés par un nombre limité de CGs (jusqu'à 10) codant le plus souvent des GRAs (Nivina et al., 2016) et sont retrouvés quasi-exclusivement chez les bactéries à Gram négatifs. De ce fait, les IMs, peuvent jouer un rôle majeur dans la dissémination de la résistance.

Au niveau structurel, les intégrons sont formés le plus souvent de 3 régions, dont deux sont conservées : la région 5'CS (aussi appelé plateforme fonctionnelle) et la région 3'CS (parfois absente) ainsi que d'une région variable (**Figure 15**).

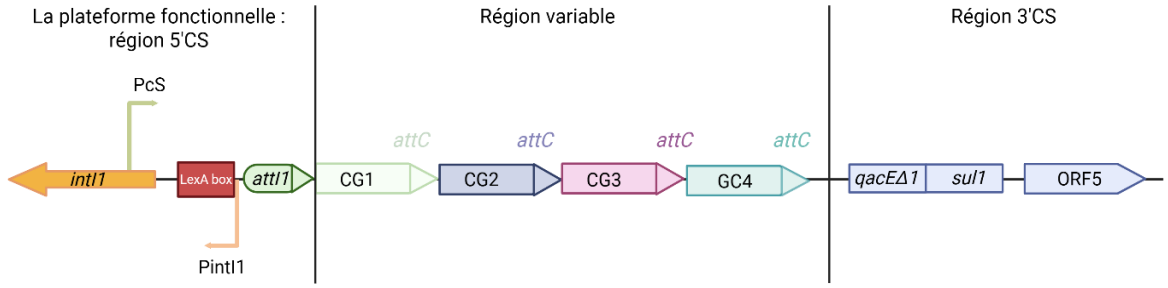


Figure 15 : structure schématique d'un intégron de classe 1

La plateforme fonctionnelle (ou région 5'CS) est composée de 3 éléments clefs : le gène de l'intégrase *intI1* sous le contrôle de son promoteur PintI1, le site de recombinaison *attI1* et le promoteur des cassettes Pc. Les cassettes de gène (CG1, CG2, CG3, CG4) composent la région variable. Elles contiennent un cadre ouvert de lecture et un site de recombinaison *attC*, et sont en général dépourvue de promoteur propre. En aval, la région 3'CS qui se compose en général, chez les intégrons clinique de classe 1, d'un gène de résistance aux ammonium quaternaire *qacEΔ*, d'un gène de résistance aux sulfamides *sul1* et d'un cadre de lecture ouvert, ORF5, codant pour une N-acétyl-transférase. Créée sur https://BioRender.com

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.1.1. La plateforme fonctionnelle

La plateforme fonctionnelle, aussi nommée région 5'CS, est composée de 3 éléments clefs que sont : le gène *intI*, sous le contrôle de son promoteur PintI, qui code pour une intégrase ; le site spécifique de recombinaison *attI* et le promoteur Pc permettant l'expression des CGs situées au niveau de la région variable (**Figure 15**).

II.1.1.1. *L'intégrase IntI*

L'intégrase, codée par le gène *intI*, appartient à la famille des recombinases à tyrosine spécifique de site (Nunes-Düby et al., 1998). L'intégrase d'intégron reconnait spécifiquement le site *attI* sous sa forme double brin et le site *attC* sous sa forme simple brin par la reconnaissance d'une structure secondaire très spécifique du brin du bas (Bouvier et al., 2005). Elle permet ainsi l'insertion (par recombinaison entre les sites *attI* et *attC* le plus souvent) ou l'excision (par recombinaison entre deux sites *attC*) des cassettes de gène (**Figure 16**).

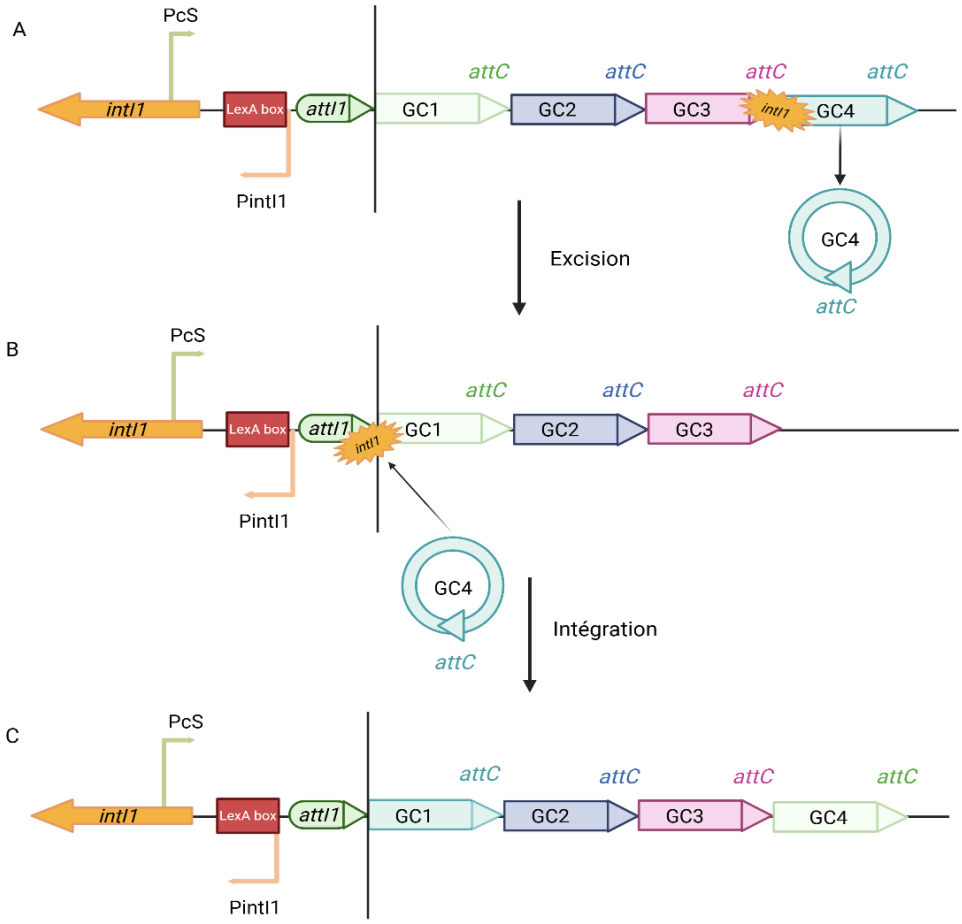


Figure 16 : schéma représentant les activités de recombinaison de l'intégrase IntI1

L'intégrase catalyse la recombinaison entre deux sites *attC* conduisant à l'excision de la cassette CG4 retrouvée sous forme circulaire. La réaction d'insertion, quant à elle se fait par recombinaison entre le site *attI1* et le site *attC* de la cassette circulaire conduisant à l'intégration de la cassette CG4 en première position du réseau de CG. Créée sur https://BioRender.com

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Il a été décrit récemment de nouveaux sites de recombinaison, nommés *attG*, retrouvés au sein des génomes bactériens. La séquence consensus déterminée démontre une grande variabilité en termes de structure et de séquence en comparaison au site *attI* classique. Il a été prouvé que l'intégrase est capable de catalyser l'intégration des CGs aux sites *attG* sur le chromosome en dehors des IMs. Les CG, tout comme celles situées au sein des IMs, pourront être exprimées, si elles sont situées à proximité d'un promoteur bactérien, ou bien excisées. (Loot et al., 2024)

Les séquences protéiques des intégrases, ont permis de définir les différentes classes d'IMs. A ce jour on compte 5 classes d'IMs : les classes 1, 2, 3, 4 et 5. Les alignements des séquences des intégrases des IM ont mis en évidence de fortes similarités entre elles (Hall *et al.* 1999 ; Collis *et al.* 2002) (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Pourcentage d'identité (en bleu) et de similarité (en rouge) entre les séquences protéiques des intégrases des IMs

	IntI1	IntI2	IntI3	IntI4	IntI5
IntI1	100	46.6	59.6	45.5	44
IntI2	63	100	46.3	49.2	48
IntI3	72.8	59.7	100	44.8	45
IntI4	64.3	64.3	62.1	100	94
IntI5	62	62	63	96	100

Les intégrons de classe 1 (IM1) codent pour l'intégrase IntI1, une protéine de 337 acides aminés, et sont les plus prévalents au sein des souches cliniques (Stokes & Hall, 1989). Les intégrons de classe 2 (IM2), quant à eux, peuvent être retrouvés en clinique mais sont le plus souvent associés aux souches isolées des animaux. Ils codent pour l'intégrase IntI2, une protéine de 325 acides aminés le plus souvent non-fonctionnelle dû à la présence d'un codon stop (TAA) prématuré donnant lieu à une protéine tronquée de 178 acides aminés. (Hansson et al., 2002) Les intégrons de classe 3 (IM3) codent pour l'intégrase IntI3, une protéine de 346 acides aminés (Arakawa et al., 1995) et sont le plus souvent retrouvés dans l'environnement. Enfin on retrouve les intégrons de classe 4 (IM4) et 5 (IM5) qui ont été décrits comme impliqués dans l'augmentation de la résistance au triméthoprime codée par le gène *dfrA1* chez les espèces de *Vibrio* (Hall et al., 1999).

II.1.1.2. *Le site de recombinaison attI*

Le site *attI* est constitué d'une séquence nucléotidique spécifique composée d'au minimum 63 paires de bases (bp pour base pair) qui varie selon les classes d'intégron et qui est reconnue spécifiquement par la protéine IntI (Hall & Collis, 1998). Il délimite la plateforme fonctionnelle et définit le site d'insertion des CGs.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chez les IM1, le site *attI1* (**Figure 17**) est composé d'une boîte L et d'une boîte R (séquences inversées répétées) formant le « site cœur » indispensable à la recombinaison par IntI1 (Collis & Hall, 2004). La boîte R comprend un motif conservé de 7 bp de séquence consensus GTTRRRY (R = purine, Y = pyrimidine) et correspond au point de recombinaison (Stokes et al., 1997). On retrouve deux autres sites de fixation appelés DR1 (site fort de fixation) et DR2 (site faible de fixation). Bien qu'ils ne soient pas nécessaires à l'activité de l'intégrase IntI1 ils permettent d'augmenter l'efficacité de recombinaison de la protéine en favorisant l'interaction entre IntI1 et la boîte R où a lieu la recombinaison entre le G et le premier T (Partridge *et al.* 2000 ; R. M. Hall, Brookes, et Stokes 1991).

Bien que les intégrases d'intégron soient plus spécifiques de leur sites *attI*, elles sont capables de recombiner un site *attI* d'une autre classe. Ainsi IntI1 peut aussi reconnaitre et recombiner un site *attC* avec un site *attI2* ou bien *attI3* (Collis, Kim, Stokes, et al., 2002).

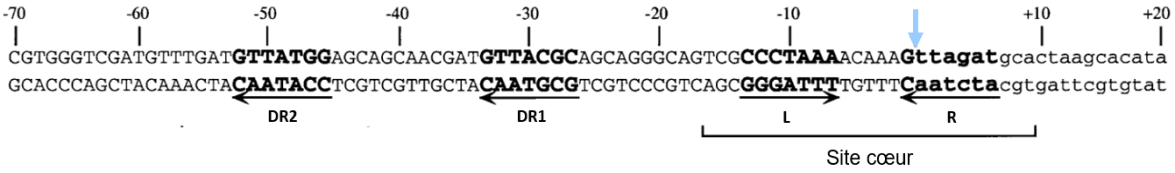


Figure 17 : Structure du site de recombinaison *attI1*

Le site de recombinaison spécifique *attI1* contient deux sites de liaison à l'intégrase, la boîte L et la boîte R permettant la recombinaison des cassettes au niveau du triplet GTT (flèche bleue) se trouvant au niveau de la boîte R. Les boîtes DR1 et DR2 ne sont pas nécessaires à la fixation de l'intégrase mais augmente son efficacité (d'après Escudero *et al.* 2016).

II.1.1.3. *Le promoteur des cassettes de gène : Pc*

La grande majorité des CGs ne possédant pas de promoteur, elles sont exprimées grâce au promoteur Pc situé au niveau de la plateforme fonctionnelle. Chez les IM1 et les IM3 ce promoteur se trouve dans la séquence codante du gène *intI* alors que chez les IM2 on retrouve deux Pc situés au sein du site *attI2* (Collis & Hall, 1995; Jové et al., 2017). Chez les IM1 (les plus étudiés à ce jour), il existe plusieurs variants de Pc de force différente (Jové et al., 2010) et qui seront décrits dans le paragraphe II.2.1.

Jusqu'à ce jour, il était admis que le niveau d'expression des CGs dépendaient de leur position par rapport au promoteur Pc, ainsi, plus la CG est proche du promoteur plus son niveau d'expression est élevé et inversement (Collis, Kim, Stokes, et al., 2002; Collis & Hall, 1995). Cependant un article récent de Carvalho et collaborateurs a montré qu'en plus de sa position au sein du réseau, la nature de la cassette située en amont de la CG jouerait aussi un rôle dans son niveau d'expression. Ainsi une CG pourrait affecter l'expression de la CG située en aval en modulant le niveau d'ARNm (transcription) et/ou de protéine (traduction) (Carvalho et al., 2024).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.1.2. La région variable : le réseau de cassettes de gène et recombinaison

On retrouve en aval de la région conservée 5'CS, la région variable de l'intégron constituée d'un réseau de CGs. Les CGs peuvent être retrouvées sous deux formes : une forme libre circulaire non-réplicative issue de l'excision et mobilisable au moment de l'intégration ; et une forme linéaire lorsqu'elle est intégrée au sein du réseau de cassettes.

II.1.2.1. *Structure des CG*

II.1.2.1.1. *La partie codante*

Les CGs se composent d'un cadre ouvert de lecture (ORF) et d'un site de recombinaison *attC* spécifique à chaque CG et qui va être reconnu par l'intégrase (Hall et al., 1991), et codent principalement, au sein des IMs, pour des GRAs ainsi que pour des systèmes de défense anti-phage (Kieffer et al., 2025). Ainsi, la plateforme en ligne integrall (http://integrall.bio.ua.pt/, 06 aout 2025), dont la dernière mise à jour date de 2021, recense plus de 190 CG codant pour des résistances aux ATBs (Partridge et al., 2009).

II.1.2.1.2. *Le site attC*

Chez les IMs, chaque CG est associée à un site *attC* (site de recombinaison spécifique des cassettes) qui varie en taille (57 à 141 bp) et en séquence (Stokes et al., 1997). Il existe deux types de recombinaisons associées aux sites *attC* : la recombinaison *attI/attC* permettant l'insertion de la CG en première position au sein du réseau variable et la recombinaison *attC/attC* qui va permettre l'excision de la CG (**Figure 16**).

Les sites *attC* s'organisent en deux régions palindromiques répétées inversées : R''-L'' et L'-R' encadrants la région centrale (**Figure 18A**) (Nivina et al., 2016). Ainsi le brin du bas (bs pour bottom strand) va se replier sur lui-même permettant l'appariement des régions R'R'' et L'L'' formant les boîtes R et L respectivement ainsi qu'une structure secondaire tige-boucle (**Figure 18B**) (Bouvier et al., 2005). Cette structure simple-brin (sb) va alors servir de substrat à l'intégrase permettant la recombinaison avec un site *attI* ou *attC*.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

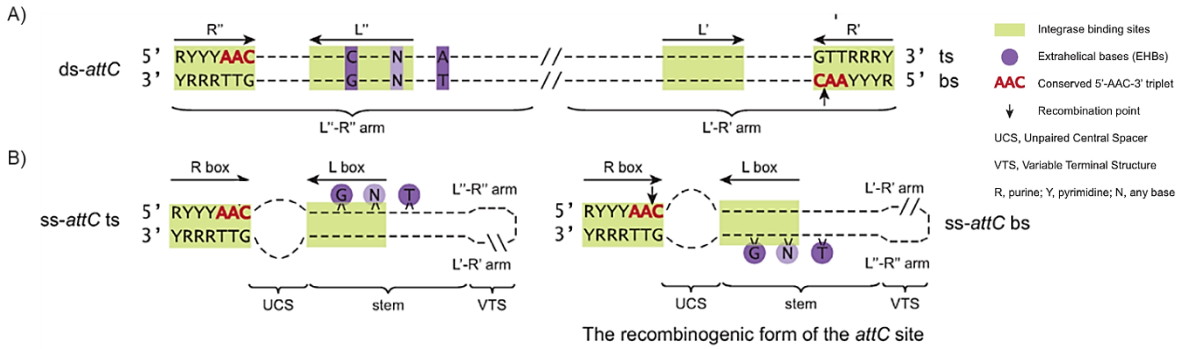


Figure 18 : Structure du site de recombinaison spécifique *attC*

A) Représentation schématique du site *attC* sous forme double-brin (db) se composant de deux séquences inversées répétées R''L'' et L'R' séparées par une région de taille variable (de 20 à 104 bp).

B) Représentation schématique d'un brin supérieur (ts pour top strand) non recombinogène et d'un bs (brin du bas ou bottom strand) recombinogène d'un site *attC* sb. Cela va permettre la formation d'un motif cruciforme formé de différentes régions : l'UCS (espaceur central non-apparié), la tige (stem) et la structure terminale variable (VTS). La recombinaison se produit au niveau au sein du triplet conservé 5'-AAC-3' dans la boîte R du bs indiqué par une flèche noir.

Par la suite l'intégrase va se fixer au niveau des boîtes R et L du site *attC* par reconnaissance de sa structure secondaire puis la boîte R, qui contient deux triplets inversés, 5'-AAC-3' et 5'GTT-3', sera sollicitée pour la recombinaison (Bouvier et al., 2005; Johansson et al., 2004). Une fois replié, le triplet CAA situé au sein de la boîte R comprend le point de recombinaison situé entre les nucléotides C et A.

II.1.2.2. *La recombinaison*

II.1.2.2.1. *L'insertion des CG par la recombinaison attI/attC*

L'insertion d'une CG se fait de manière préférentielle entre le site *attI*, situé au niveau de la plateforme fonctionnelle, et le site *attC* de la CG. Ainsi, l'intégration d'une CG se fait au plus proche du promoteur entraînant un décalage des autres CGs du réseau (Collis et al., 1993; Hall et al., 1991). Cela va entraîner un échange de brin d'ADN entre les deux sites conduisant à la formation d'une jonction de Holliday atypique (typologie conservée mais partenaires, symétrie et voie de résolution différents d'une jonction de Holliday standard) qui sera résolue par réplication (Bouvier et al., 2005; Loot et al., 2012).

II.1.2.2.2. *L'excision des CGs par la recombinaison attC/attC*

L'excision, quand-à elle, conduit à la libération de la CG sous forme circulaire (Collis & Hall, 1992). Les CGs ainsi excisées sont dépourvues d'origine de réplication et seront donc perdues lors de la division cellulaire si elles ne sont pas intégrées dans un nouvel intégron ou bien un autre site de recombinaison secondaire (Recchia & Hall, 1995).

De ce fait, les réactions d'intégration et d'excision entrainent des réarrangements de l'ordre des CGs au sein de la région variable permettant de moduler leur expression. Il a ainsi été démontré que sous pression de sélection par un antibiotique dont la résistance est codée par

Licence CC BY-NC-ND 4.0

la dernière CG du réseau, l'intégrase IntI1 pourrait permettre le réarrangement des CGs du réseau via l'excision des CGs adjacentes à la cassette d'intérêt, facilitant ainsi le rapprochement de cette dernière du promoteur Pc et ainsi l'expression de la résistance au stress appliqué (Barraud & Ploy, 2015).

II.1.3. La région 3'CS

Dans la grande majorité des intégrons, on retrouve une région conservée au niveau 3' dont la séquence dépend de la classe de l'intégron. Chez les IM1, cette région contient une structure « *sul1*-type » ou « clinique » (Partridge, 2011) qui regroupe le gène *qacEΔ1* (dérivé de *qacE* dû à l'insertion du gène *sul1*) qui code pour une pompe à efflux conférant une résistance aux ammoniums quaternaires et aux agents intercalants (Paulsen et al., 1993), le gène *sul1* qui permet la résistance aux sulfamides ainsi que *orf5* qui code pour une N-acetyl transférase (Bissonnette & Roy, 1992).

Chez les IM2, la région 3'CS est constituée du gène *orfX* (codant pour une protéine de fonction inconnue). De plus, 5 gènes *tns* impliqués dans des fonctions de transposition sont retrouvés dans la région en aval du réseau de CGs (Flores et al., 1990) ; chez les IM3 elle est très peu décrite.

II.2. La régulation de l'expression des cassettes de gènes et du gène de l'intégrase *intI*

II.2.1. Régulation de l'expression du gène *intI1*

L'expression du gène de l'intégrase est contrôlée par le promoteur PintI1, orienté dans le sens inverse du promoteur des cassettes Pc.

II.2.1.1. *Régulation de l'expression de intI1 par la réponse SOS*

L'alignement des séquences promotrices des intégrases d'intégrons a permis de mettre en évidence la présence d'un site de fixation de la protéine LexA (la boîte LexA) conservé au sein des IM1, IM2, IM3 (Guerin et al., 2009) et des ISC (**Figure 19A**). LexA est le régulateur principal de la réponse SOS (réponse aux dommages de l'ADN qui sera décrite de manière détaillée dans le chapitre III). Guérin et collaborateurs ont ainsi démontrés, expérimentalement, la fixation de la protéine LexA au niveau de la boîte LexA chez les IM1 et ISC, l'induction de l'expression d'*intI* par des molécules induisant des dommages de l'ADN et l'implication de la protéine LexA dans la régulation de l'expression de l'intégrase de ces intégrons. Tous ces éléments ont permis de démontrer que l'expression de l'intégrase des IM1 et ISC était régulée par la réponse SOS via LexA (Guerin et al., 2009). Chez les IM2, bien qu'un site LexA soit présent, la protéine ne peut pas se fixer à ce site et de fait, réguler l'expression de *intI2* (Jové et al., 2017).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.2.1.2. *Interférence transcriptionnelle entre Pc et PintI1*

Les promoteurs Pc et PintI1 sont orientés dans le sens inverse et se font donc face, suggérant l'existence potentielle d'une interférence transcriptionnelle des promoteurs entre eux. Cette interférence a été mise en évidence chez *E. coli*, avec le variant le plus fort du promoteur Pc, PcS, qui inhibe l'expression de *intI1* (Guérin et al., 2011). Ceci va dans le sens de l'observation d'un équilibre entre la force du promoteur Pc et l'efficacité de l'intégrase.

II.2.2. Le promoteur Pc et ses variants

A ce jour, 13 variants de Pc ont été décrits chez les IM1 sur la base du polymorphisme des boîtes -35 et -10 et sur la présence du motif TGN-10 (extension de la boîte -10) (Burr et al., 2000). Parmi ces 13 variants, 5 sont majoritairement retrouvés, classés du plus faible au plus fort : PcW<PcH1<PcW_{TGN-10}<PcH2<PcS (Jové et al., 2010). Un second promoteur, P2, peut être présent dans environ 10% des IM1 en aval du Pc (**Figure 19B)**. Il est formé par l'insertion de trois bases G entre les boîtes potentielles -10 et -35 et est, le plus souvent, associé au PcW ce qui permet d'augmenter le niveau d'expression *de intI1* (Collis & Hall, 1995; Jové et al., 2010). Cette insertion de trois bases entraine une modification de la boîte LexA, qui n'est alors plus reconnue par la protéine LexA, entrainant une expression constitutive de l'intégrase (Collis & Hall, 1995; Guérin et al., 2011).

En raison de sa position au sein du gène *intI1*, la variation de séquence des boites -35 et/ou -10 du Pc va directement impacter la séquence de l'intégrase. De ce fait, aux 13 variants de Pc correspondent 10 variants d'IntI1 dont trois variants majeurs montrant des efficacités de recombinaison variable. Il a été ainsi démontré qu'il existe une corrélation inverse entre la force du Pc et l'activité d'excision de l'intégrase, ainsi, plus le Pc est faible et plus l'activité de recombinaison de l'intégrase est forte (Jové et al., 2010). De plus, la forte prévalence du variant le plus faible de Pc, PcW, chez les isolats cliniques et environnementaux suggérerait que la capacité de réarrangement du réseau variable est plus importante que le niveau d'expression des CGs (Escudero et al., 2018; Moura et al., 2012; Vinué et al., 2011).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

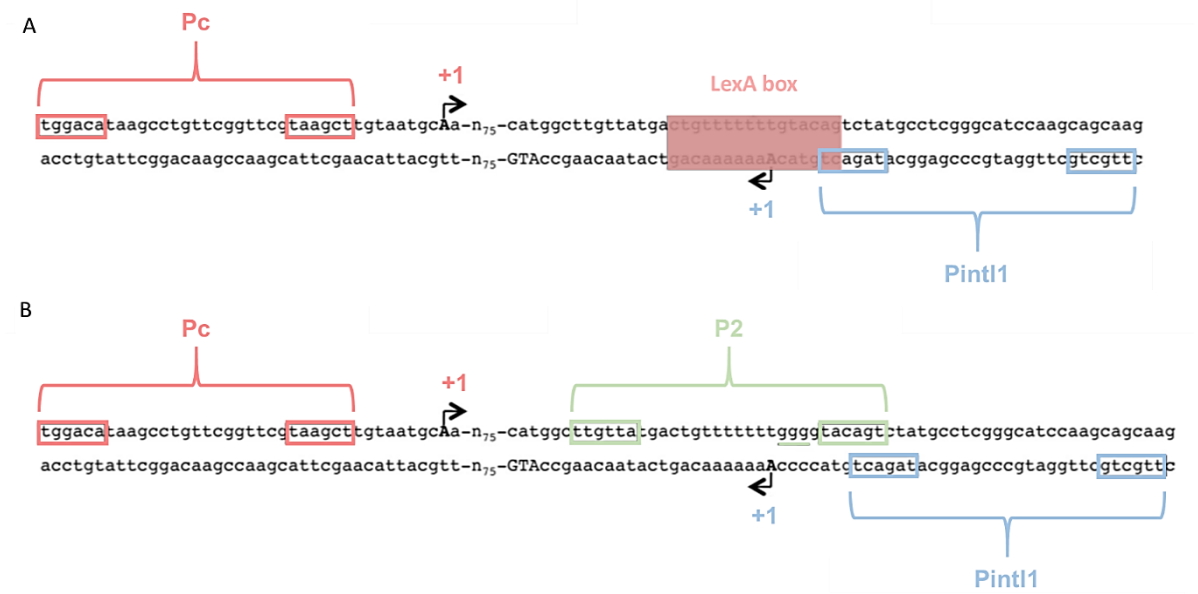


Figure 19 : Organisation de la région contenant les promoteurs Pc et PintI1 chez les IM1

Les éléments -10 et -35 sont encadrés en rose pour Pc et en bleu pour PintI1, les +1 de transcription sont indiqués avec des flèches en trait gras et le codon d'initiation de la traduction de l'intégrase est indiqué en lettres majuscules et en gras.

(A) Configuration majoritaire des IM1 avec régulation de l'intégrase par la réponse SOS. Le site de fixation de la protéine LexA (boîte LexA) est encadré en rose. (B) En présence du P2 (boîtes -10 et -35 encadrées en vert) : l'insertion de trois G, soulignés en vert, entraîne l'inactivation de la boîte LexA (adapté de Guérin *et al.* 2011).

II.3. **Les différentes classe d'intégrons**

II.3.1. Les intégrons de classe 1 : les intégrons cliniques

Les IM1 sont connus pour être associés à la dissémination de l'antibiorésistance (ABR). C'est la classe d'intégron la plus étudiée et la plus décrite en clinique du fait de leur prévalence (Leverstein-van Hall et al., 2003; Martinez-Freijo et al., 1998). Les IM1 peuvent être associés à des phénotypes de multirésistance pour leur hôte (M. Gillings et al., 2008; Koczura et al., 2014). Ils sont, le plus souvent, associés aux transposons Tn-*402,* eux-mêmes généralement portés par une autre famille de transposon, Tn*3*, permettant ainsi leur dissémination (Mazel, 2006). Les IM1 se seraient formés par capture du gène de l'intégrase *intI1* et des sites *attC*, situés sur les chromosomes des *Betaproteobacteria*, via les EGM tels que les transposons (Rowe-Magnus et al., 2002) (**Figure 20**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

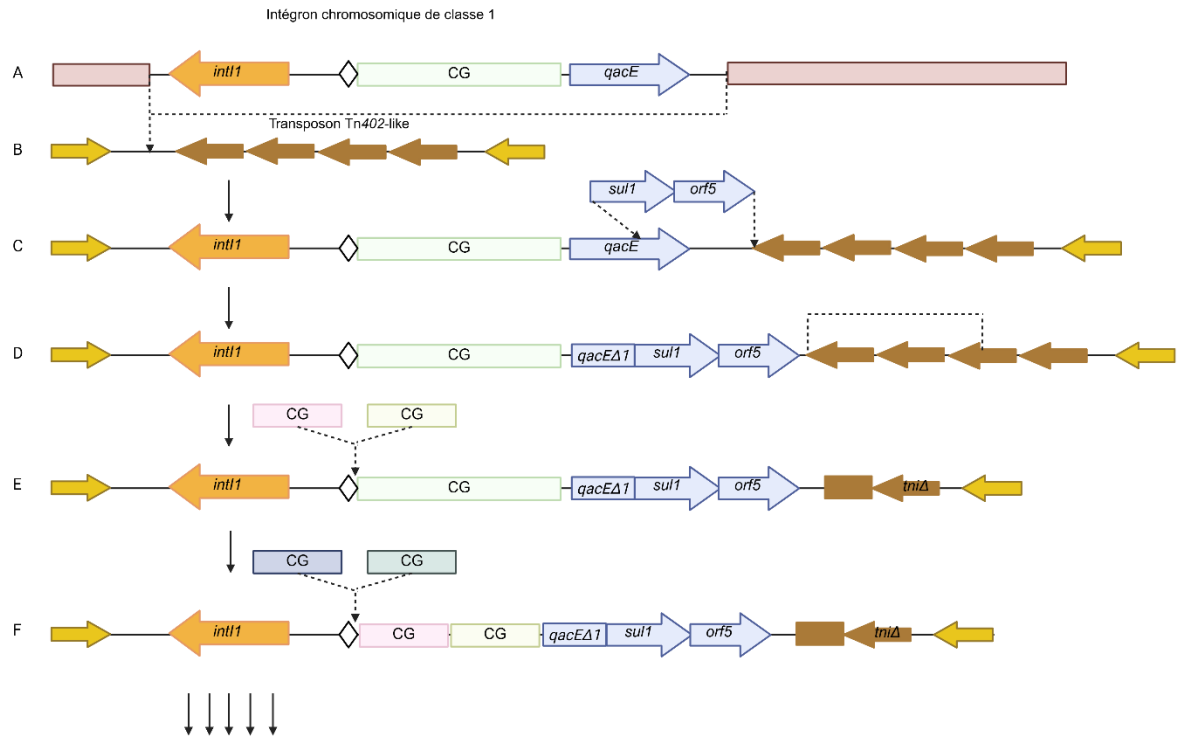


Figure 20 : Modèle hypothétique de l'origine des IM1

L'hypothèse principale de l'origine des IM1 est que l'ancêtre commun faisait partie d'un pool d'ICS (A). L'IM1 aurait été capturé au sein d'un transposon Tn*402* (B) générant un élément hybride transposon/intégron portant le gène de résistance aux ammonium quaternaire *qacE* comme cassette finale. Ensuite les gènes *sul1*, codant pour une résistance aux sulfamides, et *orf5* auraient été intégrés délétant une partie du gène *qacE* et générant ainsi la région 3'CS (D). Par la suite, des délétions, insertions et d'autres réarrangements impliquant les gènes retrouvés dans la région 3'CS au niveau du gène *tni* auraient généré un hybride Tn*402*_intégron incapable de transposition mais ayant acquis diverses résistances dû à la diversité des CG du réseau variable de l'intégron (E). L'acquisition de nouvelle CG (F) aurait continué et l'hybride Tn*402*-intégron aurait disséminé dans d'autres plasmides et transposons (tel que Tn*21*) générant de la diversité et participant à la dissémination des IM1 chez de nombreuses espèces pathogènes et commensales (adapté de M. R. Gillings 2014; M. Gillings *et al.* 2008). Créée sur https://BioRender.com

Ils auraient par la suite évolués en s'adaptant aux pressions de sélection environnementales à partir d'un ICS ancestral (M. Gillings et al., 2008). L'utilisation des ATBs, que ce soit en clinique (chez l'homme et chez l'animal) ou bien dans l'agriculture, a favorisé l'abondance des IMs. Les IM1 sont particulièrement abondants au sein des souches isolées de patients avec une fréquence comprise entre 10% et 50% chez des Entérobactéries commensales isolées de porteurs sains (M. R. Gillings, 2014a).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.3.2. Les intégrons de classe 2 : un réseau de CG stable

Les IM2 sont les plus décrits après les IM1 et sont associés aux transposons de la famille Tn7 dont la mobilité est liée aux 5 gènes *tns* (*tnsA, tnsB, tnsC, tnsD* et *tnsE*) (Flores et al., 1990). Ils sont retrouvés en clinique humaine, chez l'animal ainsi que dans l'environnement (Barlow & Gobius, 2006; Ramírez et al., 2005; Rodríguez-Minguela et al., 2009). L'intégrase IntI2 des IM2 est le plus souvent non-fonctionnelle dû à la présence d'un codon stop interne entraînant la production d'une protéine plus courte et inactive incapable de catalyser la réaction de recombinaison (Barlow & Gobius, 2006). Ceci peut expliquer le fait que le réseau de CG est stable chez les IM2, le plus souvent composé des gènes *dfrA1*, *sat2* et *aadA1* codant respectivement pour les résistances au triméthoprime, à la streptothricine et à la streptomycine/ spectinomycine. Enfin, contrairement aux IM1, les IM2 possèdent généralement deux Pc actifs (nommés Pc2A et Pc2B) qui vont contribuer, ensemble, à l'expression des GCs (Jové et al., 2017) (**Figure 21**).

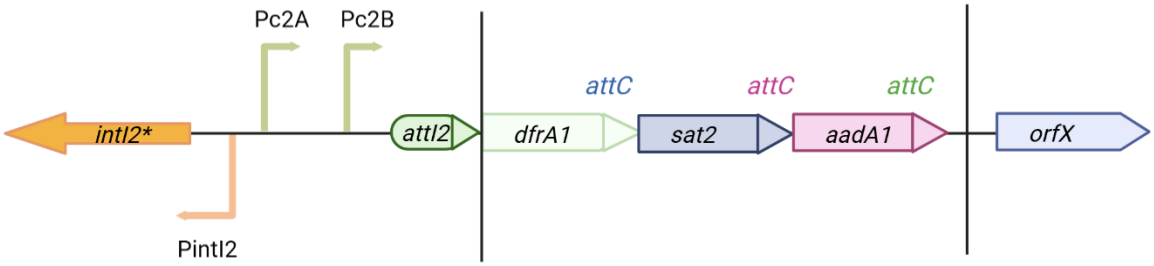


Figure 21 : Structure d'un intégron de classe 2

La région 5'CS est composée du gène de l'intégrase, généralement muté, noté *intI2** sous le contrôle de son promoteur PintI2, du site de recombinaison spécifique *attI2* ainsi que des promoteurs des CGs, Pc2A et Pc2B. Dû à la présence d'une intégrase non-fonctionnelle, le réseau de CG est en général stable et est composé des GRAs *dfrA1*, *sat2* et *aadA1*. La région 3'CS est constituée du gène *orfX* codant pour une protéine de fonction inconnue. Créée sur https://BioRender.com

Cependant, en 2005 Ramirez *et al.* ont décrit un nouveau réseau de CGs retrouvé au sein de trois isolats de *A. baumannii* contenant 6 GRAs (les gènes *sat2*, *aadAB* et *catB2* identifiés en amont des 3 gènes de résistances conventionnels) (Ramírez et al., 2005). Par la suite, au cours de ces vingt dernières années, d'autres réseau de CGs ont été décrits chez les IM2 avec, dans certains cas, la présence d'une intégrase *intI2* fonctionnelle (Ahmed et al., 2005; Bailey et al., 2010; Barlow & Gobius, 2006; Laroche et al., 2009; Wei et al., 2014). Lorsque IntI2 est fonctionnelle, le réseau de CG identifié peut être différent de celui retrouvé habituellement, avec des réseaux pouvant combiner des CGs appartenant à des IM1 ainsi qu'à des IM2, suggérant de possible échanges de CGs entre les deux classes d'intégron (Mendes Moreira et al., 2019).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.3.3. Les intégrons de classe 3 : les intégrons environnementaux

Les IM3 ont été moins étudiés et de ce fait, sont moins décrits que les IM1 ou les IM2. Ils peuvent être retrouvés en clinique (Correia et al., 2003; Poirel et al., 2010) mais sont essentiellement détectés dans l'environnement, spécialement au niveau des effluents hospitaliers et des stations d'épuration (STEP) avec une forte abondance relative (Stalder et al., 2014). Ils sont plus rarement décrits chez les animaux mais ont été identifiés chez le porc et le bœuf, au cours d'infections ainsi que dans des huîtres (Barkovskii et al., 2010; Goldstein et al., 2001). En clinique, les IM3 sont associés à la résistance aux ATBs (essentiellement des résistances aux β-lactamines et aux aminosides) et possèdent une histoire évolutive similaire aux IM1. De ce fait, tout comme les IM1, ils sont souvent associés au transposon Tn*402* et possèdent une intégrase fonctionnelle (Collis, Kim, Partridge, et al., 2002). Bien qu'ayant peu d'impact, d'un point de vue clinique, ils semblent jouer un rôle dans la dissémination des GRAs dans l'environnement du fait de leur composition en CG (Simo Tchuinte et al., 2016).

II.3.4. Les autres classe d'intégrons

Les IM4 et les IM5 ont été identifiés chez le genre *Vibrio*. Le premier IM4 a été localisé sur le chromosome de *V. cholerae* au niveau de l'élément génétique SXT (Hochhut et al., 2001) alors que le premier IM5 a été retrouvé associé au plasmide pRSV1 de *Alivibrio salmonicida* (Sørum et al., 1992). Dans les deux cas, le réseau de CG ne comportait qu'un seul gène de résistance aux ATBs, *dfrA1*, codant pour une résistance au triméthoprime suivi de plusieurs autres gènes codants des protéines de fonctions inconnues (Collis, Kim, Partridge, et al., 2002).

II.4. **Epidémiologie des intégrons de résistance dans la dissémination des GRA**

Les IMs jouent un rôle majeur dans la dissémination de la résistance aux ATBs et sont le plus souvent retrouvés au sein d'isolats cliniques de bactéries à Gram négatif (BGNs) chez lesquels jusqu'à 60% des isolats possèdent un IM1 (Deng et al., 2015).

II.4.1. En clinique humaine

En clinique humaine les IM1, plus particulièrement, jouent un rôle central dans la dissémination des GRAs. Leur prévalence est élevée chez de nombreuses BGN tels que *E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Kaushik et al., 2018). Ces éléments génétiques facilitent l'acquisition et l'expression des CGs codant pour des GRAs contribuant ainsi à l'émergence et à la propagation des souches MDR dans les milieux hospitaliers. En effet, leur prévalence au sein d'isolats cliniques varie entre 10 et 30% chez les BGNs isolés d'hémocultures (Barraud et al., 2014; Heir et al., 2004). De plus leur présence est fortement corrélée à la multirésistance et notamment aux β-lactamines, aux aminosides ainsi qu'aux quinolones (Leverstein-van Hall et al., 2003; Rezaee et al., 2011).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Bien que plus rarement retrouvés, les IM2 et les IM3 sont également impliqués dans la dissémination de la résistance. Ils sont souvent associés à des intégrons complexes ou hybrides et peuvent contenir plusieurs GCs (Stokes *et al.* 1993; Ploy *et al.* 2000).

II.4.2. Chez les animaux

Les IMs ont été identifiés chez des bactéries commensales et pathogènes isolées d'une grande diversité d'animaux (animaux domestiques, d'élevage ainsi que de la faune sauvage) (Dolejska et al., 2007; Duijkeren et al., 2005; Goldstein et al., 2001). Les élevages aquacoles et piscicoles constituent, eux aussi, un réservoir important d'IM avec le genre *Aeromonas* qui semble posséder un rôle notable dans leur dissémination (Schmidt et al., 2001).

Chez les animaux, la prévalence des IMs varie selon l'espèce animale, l'espèce bactérienne et le phénotype de résistance. Les animaux d'élevage constituent, généralement, un réservoir plus important d'IMs que les animaux de compagnie. En effet, dans une étude datant de la fin des années 2000, 22% des souches de *E. coli* commensales isolées chez des chiens et des chats portaient un IM alors que ce pourcentage était de 52% chez des animaux de rente (bétails, porcs et volailles) (Cocchi et al., 2007).

II.4.3. Dans l'environnement

L'activité humaine va avoir un impact mesurable sur l'environnement, qui est un terrain favorable à la sélection des bactéries résistantes aux antibiotiques (BRA) mais aussi à la dissémination des GRAs (Buelow et al., 2021). Pour évaluer la dissémination de la résistance aux ATBs liée aux rejets d'origine anthropique ainsi que les risques sanitaires associés, ce sont principalement les IMs, et en particulier les IM1, qui sont utilisés comme marqueurs bactériens (Amos et al., 2015; M. R. Gillings et al., 2015). En effet, il a été estimé par différentes études, qu'entre 1 et 5% des bactéries isolées de l'environnement (eaux, sols et eaux usées) porteraient un IM (Gaze et al., 2005; Hardwick et al., 2008; Stalder et al., 2014).

De plus il est admis que les effluents, quelle que soit leur origine, sont vecteurs de BRAs qui peuvent potentiellement porter des IM. Les études portant sur les IMs dans les effluents anthropiques ont permis de mettre en avant leur rôle important dans la dissémination des GRA au sein de l'environnement (Stalder et al., 2012). Différentes études, dont le but était d'analyser le contenu en CG des IM1 présents dans les boues activées de STEP ont mis en évidence que la majorité des CGs, ayant pu être caractérisés sur le plan fonctionnel, codaient pour des GRAs et plus particulièrement pour des résistances aux aminosides, aux β-lactamines, au chloramphénicol et au triméthoprime (An et al., 2022; Gatica et al., 2016; Yang et al., 2021).

Les hôpitaux, quant à eux, sont du fait de leur activité des établissements très concernés par les BRAs, avec des IMs retrouvés en plus grande quantité au sein d'effluents hospitaliers en comparaison à d'autres types d'effluents anthropiques (effluents urbains, rivières, effluents

Licence CC BY-NC-ND 4.0

d'abattoirs) (Buelow et al., 2020; Stalder et al., 2012, 2014). Étonnamment, bien que les IM1 et les IM2 soient les deux classes d'intégrons les plus décrites, du fait de leur prévalence plus importante que ce soit en clinique ou au sein des échantillons des eaux usées d'hôpitaux, une étude de 2014 a montré une abondance relative en IM3 plus importante qu'en IM2 dans des effluents hospitaliers (Stalder et al., 2014).

Ainsi, l'ensemble de ces données mettent en avant l'impact des effluents, urbains et hospitaliers, dans la dissémination des BRAs et des GRAs dans l'environnement. Les différentes études montrent une prévalence élevée des intégrons, et en particulier des IM1, au sein des différents compartiments du One-Health (humains, animaux de compagnie et de rente, environnement) suggérant un rôle central de ces IMs dans la dissémination de l'ABR (Fry et al., 2023; Jiang et al., 2025; Kaushik et al., 2018) **(Figure 22**). Cela souligne l'importance de la surveillance des intégrons selon l'approche One-Health afin de mieux comprendre mais aussi de mieux contrôler la propagation de l'ABR.

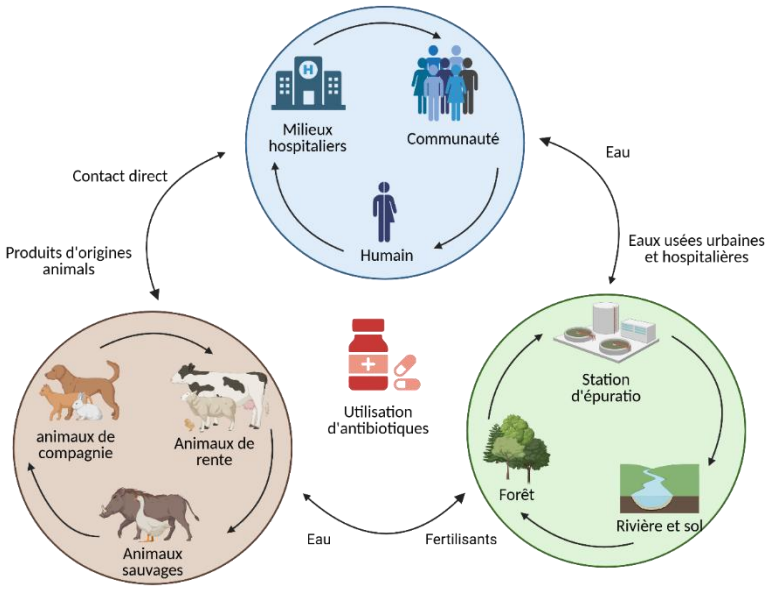


Figure 22 : Facteurs contribuant à la dissémination des BRAs et des GRAs selon le concept One-Health

L'usage et le mésusage des ATBs contribue au développement de bactéries résistantes, favorisant leur multiplication et propagation dans les différentes niches, au travers des diverses interactions entre humains, animaux et environnement. C'est pour cela que l'étude de l'ABR doit être abordée en utilisant une approche dite « One-Health ». Les BRAs et GRAs peuvent être transmis entre humains par contacts directs ou indirects ou par aérosols contaminés. De plus, les hôpitaux sont considérés comme des « hot spot » de propagation de BRAs et de GRAs, permettant la dissémination dans l'environnement via les effluents hospitaliers et urbains. La dissémination va aussi être possible entre animaux et humains soit par contacts directs soit par la consommation de produits d'origine animale. En effet, l'utilisation des ATBs dans les élevages favorise l'apparition de souches résistantes pouvant se propager au sein de l'élevage mais aussi dans l'environnement et chez l'Homme. Enfin, l'utilisation du fumier comme engrais peut entraîner une contamination des sols ainsi que des rivières. Créée sur https://BioRender.com

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.5. **Epidémiologie des intégrons de résistance chez le genre *Acinetobacter***

II.5.1. Prévalence des différentes classes d'IMs

La prévalence des différentes classes d'intégrons chez le genre *Acinetobacter*, et notamment chez *A. baumannii*, varie selon les contextes géographiques et cliniques ; mais les IM1 sont, en général, les plus fréquemment retrouvés. Dans une étude analysant 100 souches cliniques de *A. baumannii* pour la présence d'IM1 et IM2 ; la présence d'un IM1 a été mise en évidence chez plus de 90% des souches MDR (Peymani et al., 2012). D'autres études rapportent des prévalences variables d'IM1 chez des souches MDR, allant de 40 % à plus de 90 %, avec des fréquences d'IM2 plus faibles (12%) et des IM3 rarement détectés. (Adeniji et al., 2022; Ploy et al., 2000). Cependant, des travaux portant sur la prévalence des IMs chez des souches cliniques de *A. baumannii* en Amérique du Sud (Argentine, Brésil et Chili) ont montré une proportion plus élevée d'IM2 que d'IM1 (Fonseca et al., 2011; Gonzalez et al., 1998; M et al., 2013).

Bien qu'il existe des données sur la présence de *A. baumannii* MDR isolées chez les animaux, il n'y a pas, à ce jour, d'étude sur la prévalence des différentes classes d'intégrons chez des souches de *Acinetobacter spp*.

Concernant l'environnement, il existe plusieurs études qui se sont intéressées à la prévalence des IMs chez des souches de *Acinetobacter spp*. Une d'entre elles a mis en évidence la présence d'IM1, d'IM2 et d'IM3 au sein de souches de *Acinetobacter* isolées de prélèvements de rhizosphères du blé et du maïs ainsi que de boues. Dans ce cas, la prévalence des IM1 était de 41%, celle des IM2 de 6% et près de 9% des souches portaient un IM3 (Shaheli et al., 2018). Dans une étude plus récente, la présence d'IM1 et 2 a été rapportée respectivement chez 79% et 12.3% des 56 souches de *A. baumannii* MDR isolés à partir de d'environnements aquatiques anthropisés ; cependant, aucun IM3 n'a été détecté (Adeniji et al., 2022). Cette répartition suggère que, tout comme en clinique, les IM1 seraient plus prévalent que les autres classes dans l'environnement aquatique.

De plus, de nombreuses études ont montré que la majorité des souches MDR de *A. baumannii* portaient un ou plusieurs IM1 et que cette présence était fortement associée à une résistance accrue à plusieurs classes d'ATB (Adeniji et al., 2022; Peymani et al., 2012; Ploy et al., 2000). Toutes ces données mettent donc en avant une corrélation entre présence d'IM1 et phénotype de multirésistance chez *Acinetobacter* (et en particulièrement chez *A. baumannii*).

Cependant, il existe une hétérogénéité dans les résultats de certaines études portant sur le lien entre présence d'IM1 et MDR chez des isolats de *A. baumannii*. Pour exemple, une étude, portant sur 70 isolats de *A. baumannii* MDR, a mis en évidence la présence d'IM1 dans 84% des souches. De plus, l'analyse du réseau variable de ces IM1 a révélé la présence de gènes

Licence CC BY-NC-ND 4.0

codant pour des enzymes de résistance aux aminosides. Cependant les profils de résistance aux ATBs ne montraient pas de différences entre les souches portant ou non un IM1 (Lin et al., 2013). Enfin une étude de 2023 a mis en évidence la présence de souche de *A. baumannii* MDR au sein de l'environnement clinique (service des grands brûlés et unités de soins intensifs) de deux hôpitaux iraniens dont la quasi-totalité isolats étaient résistants à l'imipenème. Parmi les isolats, 75% portaient un IM1 dont le réseau variable contenait des gènes de résistance à plusieurs familles d'ATB tels que les aminosides, le chloramphénicol, les macrolides et la rifampicine. De plus, dans cette étude, la présence d'IM1 était fortement associée à la multirésistance (Firoozeh et al., 2023).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chapitre III. La régulation aux dommages de l'ADN chez le genre *Acinetobacter*

Chez la plupart des bactéries, l'exposition à un facteur de stress environnemental va déclencher une réponse au stress (Khil & Camerini-Otero, 2002). L'une des réponses les plus étudiées, présente chez la plupart des BGNs dont *E. coli*, est la réponse aux dommages de l'ADN induite par la formation d'ADN simple brin (ADNsb), appelée aussi « réponse SOS ».

III.1. Les inducteurs de la réponse aux dommages de l'ADN

La réponse aux dommages de l'ADN est induite par la présence d'ADN sous forme d'ADNsb (Radman, 1975a) et a été identifiée pour la première fois chez des cellules de *E. coli* irradiées aux UV, puis associée à d'autres agents endommageant l'ADN tels la mitomycine C (MMC) (Costa de Oliveira et al., 1987). Depuis lors, de nombreux autres processus internes et externes pouvant générer des dommages à l'ADN ont été identifiés (**Figure 23**).

Il existe donc plusieurs types de stress qui peuvent être classés en trois catégories : le stress direct comme les rayons UV et gamma (Kuzminov, 1999), les perturbations métaboliques, notamment les niveaux d'AMP cyclique intracellulaire (Taddei et al., 1995) et les stress environnementaux tel que le stress oxydatif (Imlay & Linn, 1987). Baharoglu *et al.* ont également démontré que certains mécanismes de THG peuvent générer de l'ADNsb en l'absence de dommages à l'ADN. En effet, les processus de conjugaison et de transformation bactériennes impliquent l'entrée d'ADNsb dans la cellule ce qui va induire la réponse SOS et éventuellement permettre l'expression de l'intégrase des intégrons chez *E. coli* et *V. cholerae* (Baharoglu et al., 2010, 2012). Certains antibiotiques, tels que le triméthoprime (inhibition de la synthèse des purines et des pyrimidines) (Lewin & Amyes, 1991), les quinolones (inhibition de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV) (Pohlhaus & Kreuzer, 2005) et la MMC (provoque des liaisons transversales T-T conduisant à des cassures de l'ADN) ont un impact direct ou indirect sur la réplication de l'ADN et induisent également la réponse SOS.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

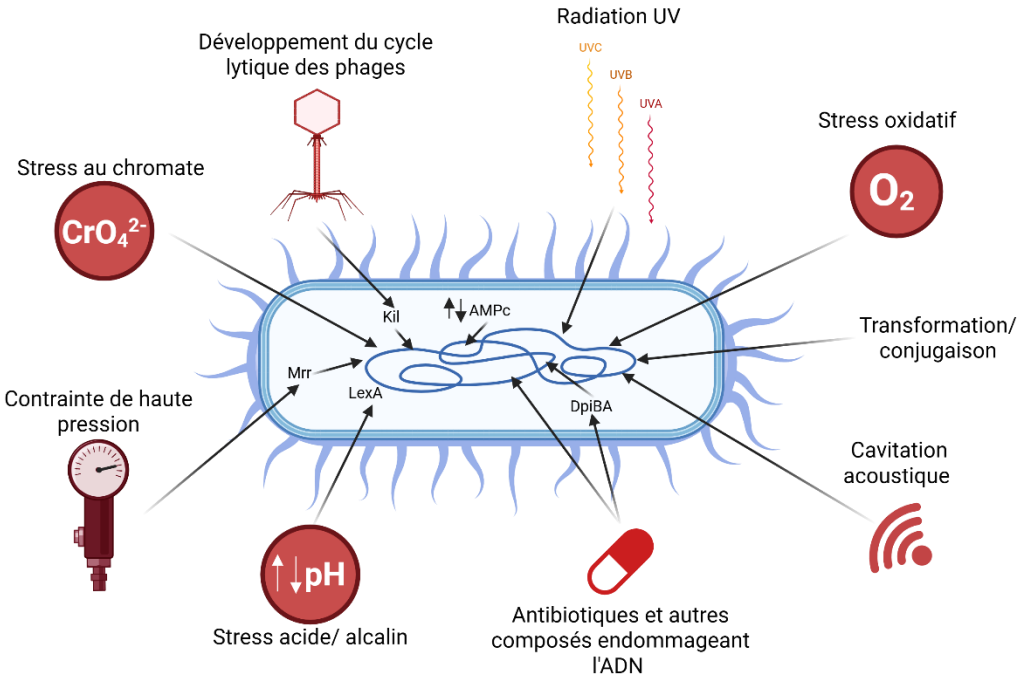


Figure 23 : **Les différents signaux et mécanismes pouvant induire la réponse aux dommages de l'ADN**

Principaux inducteurs directs et indirects de la réponse SOS. Pour l'activation indirecte, les molécules intermédiaires impliquées sont indiquées dans leurs voies respectives. Les mécanismes d'activation endogènes sont indiqués par des molécules/mutations nommées sans flèche externe (adapté de Erill *et al.*, 2007). Créée sur https://BioRender.com

III.2. La réponse SOS

La réponse SOS chez *E. coli*, induite par la formation d'ADNsb, dépend de deux régulateurs centraux, le répresseur LexA et l'activateur RecA, et implique plus de 50 gènes qui permettront à la bactérie de répondre et survivre aux stress (Maslowska et al., 2019; Prakash, 1974; Radman, 1975a). L'activation de la réponse SOS chez *E. coli* se fait selon le schéma présenté dans la **Figure 24**. La formation d'un nucléofilament protéique entre la protéine RecA et l'ADNsb va induire l'auto-protéolyse de LexA et ainsi permettre la dérépression des gènes du régulon SOS. Cette dernière permet ainsi l'expression de gènes visant à réparer les dommages causés à l'ADN et leurs répercussions (Crowley & Courcelle, 2002). Si les dommages causés à l'ADN ne sont pas complètement réparés, l'ADN polymérase V à faible fidélité, codée par les gènes *umuD* et *umuC*, est induite, permettant à la réplication de se poursuivre, même en présence de dommages. Cette polymérase à faible fidélité est moins sélective et incapable de corriger ses erreurs, ce qui entraîne une augmentation des taux de mutations spontanées (Courcelle et al., 2001; Henrikus et al., 2018; Maslowska et al., 2019). Certains antibiotiques étant capables d'induire la réponse SOS à des concentrations sous-inhibitrices (Baharoglu & Mazel, 2014), ce mécanisme peut jouer un rôle significatif dans l'émergence et la dissémination de la résistance aux antibiotiques, car ces concentrations ne

Licence CC BY-NC-ND 4.0

tuent pas les bactéries, mais peuvent activer la réponse SOS et ainsi favoriser l'acquisition de mutations adaptatives (Gullberg *et al.*, 2011 ; Kohanski *et al.*, 2010).

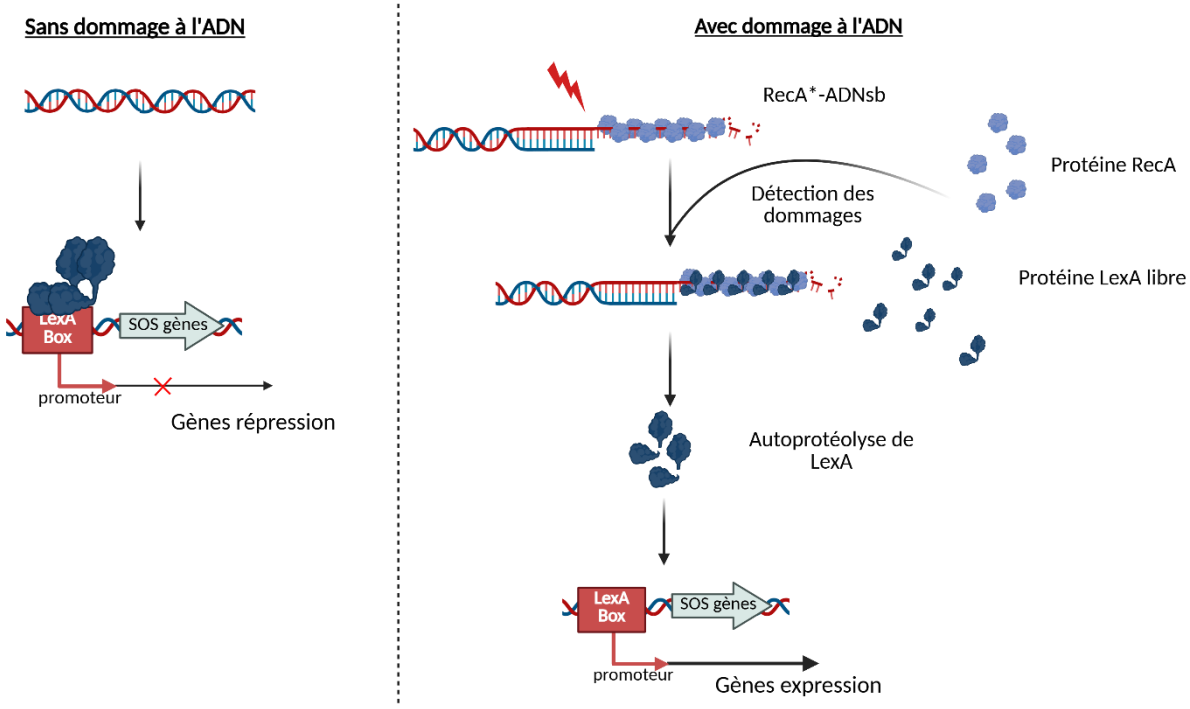


Figure 24 : Représentation schématique de l'activation de la réponse SOS

Dans des conditions normales, lorsqu'il n'y a pas de dommages à l'ADN, la protéine LexA se lie à l'ADN au niveau de son site de liaison, la « boîte LexA » (notée LexA box), réprimant ainsi les gènes régulés par LexA, et en l'occurrence les gènes de réponse SOS.

Lorsque l'ADN est endommagé, un ADN simple brin (ADNsb) se forme et est reconnu par la protéine RecA. Cette protéine se lie alors à l'ADNsb et s'active, entraînant la formation du nucléofilament RecA*-ADNsb. Le changement de conformation de RecA* entraîne l'auto protéolyse des dimères de LexA libres et donc la dérépression des gènes du régulon SOS. Créée sur https://BioRender.com

La réponse SOS permet aussi d'induire l'expression de gènes non impliqués dans la réparation de l'ADN, mais dans la propagation de la résistance. Ainsi, elle va permettre l'induction des gènes nécessaires au transfert de l'élément SXT (Beaber et al., 2004), un ICE (élément conjugatif intégratif) d'environ 100 Kb dérivé de *V. cholerae*, qui code pour des gènes conférant une résistance au chloramphénicol, au sulfaméthoxazole, au triméthoprime et à la streptomycine (Hochhut et al., 2001), ou encore l'expression de l'intégrase d'intégron (Guerin *et al.*, 2009). L'activation de la réponse SOS favorise donc l'émergence de la résistance aux ATBs de deux manières : l'induction de la mutagenèse et par le transfert d'EGM ou de CG dans le cas des intégrons.

III.3. La réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter spp*.

La découverte d'homologues de LexA impliqués dans la régulation des gènes de réparation de l'ADN chez d'autres BGNs a suggéré que la réponse SOS était une adaptation bactérienne

Licence CC BY-NC-ND 4.0

universelle aux dommages causés à l'ADN (Mazón et al., 2004; Movahedzadeh et al., 1997; Zverlov & Schwarz, 1999). Cependant, certaines bactéries présentent des réponses aux dommages à l'ADN qui diffèrent considérablement de la réponse SOS canonique. En effet, la protéine LexA, connue pour son rôle majeur dans la réponse SOS, est absente chez certaines espèces bactériennes telles que *Streptococcus pneumoniae* (Prudhomme et al., 2006a), *Legionella pneumophila* (Charpentier et al., 2011a) et les espèces du genre *Acinetobacter* (Hare, Adhikari, et al., 2012a).

La spécificité de la réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter spp.* est détaillée dans la revue ci-dessous.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

The unusual DNA damage response in *Acinetobacter spp.*

Anne-Laure GUENIN[1], Elodie COUVE-DEACON[1,2], Sandra DA RE[1]

Affiliations:

[1]Université de Limoges, INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, U1092, Limoges, France

[2] CHU de Limoges, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Limoges, France

Corresponding author: Centre de Biologie et de Recherche en Santé, UMR INSERM 1092 RESINFIT, rue du Pr Bernard Descottes, Limoges, 87 025 Cedex, France

Limoges

Sandra Da Re, Email : sandra.da-re@unilim.fr

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Abstract

Most bacterial species cope with DNA damages by activating the so-called canonical SOS response which is controlled by the LexA and RecA regulators. However, the *Acinetobacter* genus lacks a LexA homolog and instead relies on an alternative mechanism to respond to stress causing DNA damage. In this genus, the central role of two proteins UmuDAb and DdrR has been highlighted in regulating the DNA damage response in a RecA-dependant way. A novel regulator, EppR, has been identified more recently. Contrary to *Escherichia coli* which has one SOS regulon, controlled by both *LexA* and *RecA,* in *Acinetobacter* several DNA damage regulons have been identified depending on one or several of the regulators. Furthermore, these regulons vary depending on the *Acinetobacter* species. In *Acinetobacter baumannii,* the DNA damages response can lead to an increased rate of mutagenesis and the rapid evolution of antibiotic resistance. This review summarises current knowledge on the regulation of DNA damages in the genus *Acinetobacter*, focussing on the pathogen *A. baumannii* and the non-pathogenic *A. baylyi.* Understanding the diversity and regulation of DNA repair pathways in *Acinetobacter* is crucial to unravelling the mechanisms that underlie their adaptability and persistence in hospital environments.

Keywords: *Acinetobacter spp., DNA damage response, UmuDAb, DdrR, EppR, regulation*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Abbreviations

MMC	Mitomycine C
Acb	*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*
CIP	Ciprofloxacin
CTD	C-terminal domain
DDR	DNA damage response
HTH	helix-turn-helix
KDa	Kilo Dalton
NTD	N-terminal domain
ssDNA	single-strand DNA
UV	Ultraviolet light

A reminder about the SOS response

Most bacteria initiate a stress response upon exposure to environmental stressor (Khil & Camerini-Otero, 2002). One of the most studied bacterial stress response is the response to DNA damages induced by the presence of single-strand DNA (ssDNA), the so-called “SOS response” (Radman, 1975b). It was first identified in UV-irradiated *E. coli* cells and subsequently linked to other DNA-damaging agents such as Mitomycin C (MMC) (Costa de Oliveira *et al.*, 1987). Since then, many other internal and external processes that can generate ssDNA damages have been identified (Erill *et al.*, 2007; Baharoglu *et al.*, 2010, 2012).

The SOS response is conserved in the majority of Gram-negative bacteria, and depends on two central regulators, the repressor LexA and the activator RecA, themselves regulated by the DNA damage. In *E. coli*, the SOS regulon contains more than 50 genes involved in DNA repair, cell division arrest,… stress (Maslowska et al., 2019; Prakash, 1974; Radman, 1975a).

The repressor LexA is a 22 kDa protein consisting of two domains: a N-terminal domain (NTD) and a C-terminal domain (CTD), separated by a hinge region (**Figure 1**). The NTD contains a helix-turn-helix (HTH) domain that enables DNA binding to the LexA-box, while the CTD contains a dimerization site and the catalytic site for auto-proteolysis (Zhang *et al.*, 2010). In normal condition, LexA represses the SOS regulon genes by binding to a palindromic sequence called the “LexA-box” or “SOS-box” located in the gene’s promoter region. This box contains a highly conserved palindromic motif and is composed of 16 bp consensus 5’-CTGT-N_8-ACAG-3’ (Baharoglu & Mazel, 2014; Erill *et al.*, 2007).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

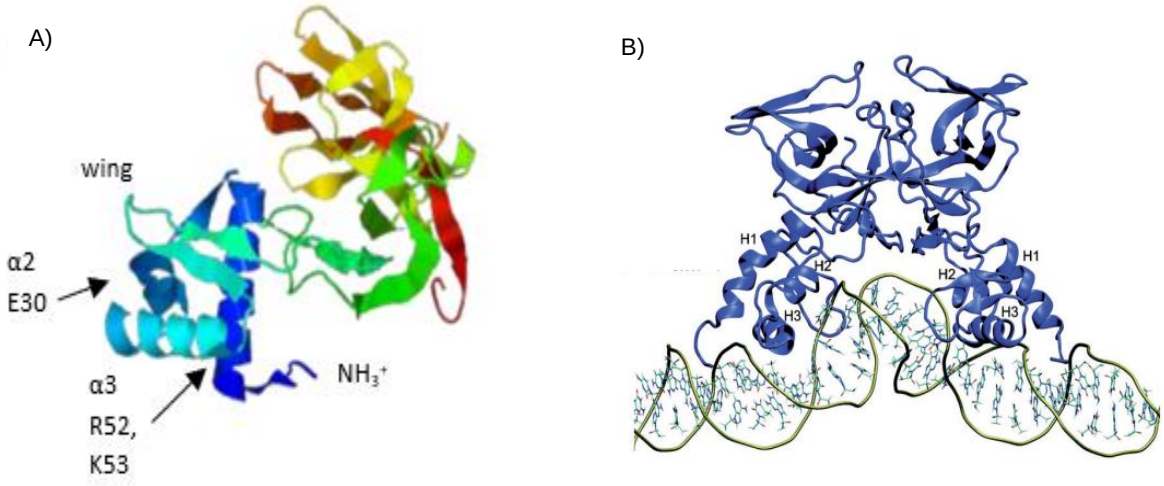


Figure 1: Tertiary structure of the LexA protein from E. coli

A) I-Tasser modelling of the LexA protein, with the DNA-binding domain (NTD) shown in blue and the dimerization domain (CTD) shown in green-red. The arrows point to certain amino acids within the α2 and α3 helices necessary for DNA binding.

B) LexA protein dimer bound at the LexA box. This binding occurs via the NTD domain, through an HTH motif (according to Butala *et al.*, 2009).

The activator RecA, a 38 KDa recombinase, plays an essential role in DNA damage repair at several different levels: it catalyses homologous recombination and is as well, the second master regulator of the SOS response (Witkin & Kogoma, 1984). The formation and accumulation of ssDNA during bacterial stress (exogenous or endogenous) activates RecA (RecA*, active form), leading to the formation of RecA*-ssDNA nucleofilaments which is going to stimulates the auto-proteolysis of LexA (Giese *et al.*, 2008; Horii *et al.*, 1981; Kreuzer, 2013; Little & Mount, 1982; Mo *et al.*, 2014).

As a result, the SOS regulon genes are derepressed, allowing the expression of genes whose products are aimed at addressing DNA damage (Crowley & Courcelle, 2002). Expression of the SOS regulon genes is timed and depends on the intensity of DNA damages and the LexA-binding motif strength (Courcelle *et al.*, 2001; Henrikus *et al.*, 2018; Lewis *et al.*, 1994). If DNA damages are not completely repaired, expression of the *umuD* and *umuC* genes, encoding the low-fidelity DNA polymerase V, is induced. Like LexA, UmuD undergoes a RecA*-dependent self-cleavage, leading to UmuD', a subunit of the translesional DNA polymerase V ($UmuD'_2$-UmuC) allowing replication to continue even in the presence of DNA damage. This low-fidelity polymerase is leading to an increase in spontaneous mutation rates (Courcelle *et al.*, 2001; Henrikus *et al.*, 2018; Maslowska *et al.*, 2019).

The identification of LexA homologs involved in regulating DNA repair genes in other species and phylum, such as the Firmicutes Bacillus subtilis, *Actinobacterium Mycobacterium*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

tuberculosis, *Thermotogae Thermotoga naepolitana* or *Cyanobacterium Anabaena sp* (Wojciechowski *et al.*, 1991; Mazón *et al.*, 2004; Movahedzadeh *et al.*, 1997; Zverlov & Schwarz, 1999), lead to the initial suggestion that the SOS response was an universal bacterial adaptation to DNA damage. However, the absence of the *lexA* gene has been observed in whole bacterial classes and phyla (Erill *et al.*, 2007), and in certain bacterial species such as *Streptococcus pneumoniae* (Claverys et al., 2009; Prudhomme et al., 2006b), *Legionella pneumophila* (Charpentier et al., 2011b), and species of the genus *Acinetobacter* (Hare *et al.*, 2006) (Hare, Bradley, *et al.*, 2012). These bacteria exhibit DNA damage responses (DDR) that differ significantly from the canonical SOS response.

In this review, we will focus on the DDR in the genus *Acinetobacter*.

Particularity of the *Acinetobacter* DNA damage response

The genus *Acinetobacter* consists of Gram-negative, strictly aerobic and ubiquitous bacteria and currently comprises more than 80 species (www.bacterio.net, August 6, 2025). Moreover, the pathogenic species of this genus are mostly members of the *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (*Acb*) complex which includes, *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* and *A. lactucae.*

The first indication that the DDR might differ between *E. coli* and *Acinetobacter* came from observations in *A. calcoaceticus* showing that the promoter region of the *recA* gene lacks a LexA-binding motif (Gregg-Jolly & Ornston, 1994). Moreover, *recA* expression is induced by DNA-damaging agents independently of the presence of functional RecA, suggesting a novel regulatory mechanism, possibly involving a non-LexA repressor (Rauch *et al.*, 1996). Nonetheless, in *A. baumannii*, RecA is involved in DNA damage repair via homologous recombination in response to various stresses such as DNA damages, antibiotics or oxidative stress (Aranda *et al.*, 2011). These results suggested that in contrast to the typical SOS response in *E. coli*, in *Acinetobacter*, RecA would not be involved as the main activator of the DDR, but as a major enzyme responsible for repair of DNA damages.

Acinetobacter species are capable of surviving UV exposure, but the survival rates differ dramatically, by as much as five orders of magnitude between *A. lwoffii* and *A. calcoaceticus*. However, most species do not exhibit mutagenesis following UV irradiation. (Hare, Bradley, *et al.*, 2012). These observations suggest that, even though members of the *Acinetobacter* genus lack the *lexA* gene, a DDR mechanism is nevertheless present. Hare *et al.* showed that, in *A. baylyi* strain ADP1, a gene induced in response to DNA damages, *ddrR,* was regulated by an atypical *umuDC* operon (Hare *et al.*, 2006). This operon was located adjacent to the *ddrR* gene, in the opposite direction, and encoded a longer UmuD protein compared to the *E. coli* UmuD subunit of error prone DNA polymerase V – designated UmuDAb – along with a

Licence CC BY-NC-ND 4.0

truncated UmuC protein. Interestingly, the number of *umuC and umuD* genes in the *Acinetobacter* genus varies, *A. baylyi* carrying only the above mentioned unusual *umuDC* operon. Looking for *umuD*, *umuDAb*, *umuC* and *ddrR* genes in *Acinetobacter* species (*A. baumannii* and *non-baumannii* strains) sequenced genomes, Hare *et al.* identified 4 combinations of these genes, all located on the chromosome: *ddrR-umuDAb-umuC*, *ddrR-umuDAb*, *umuC-umuD* (*E. coli* like *umuD*) and *umuD-umuC* (chimeric *umuD*) (Hare, Bradley, *et al.*, 2012). All the *Acb* complex strains of this study carried the *ddrR-umuDAb* combination (Hare, Bradley, *et al.*, 2012). A gene phylogeny of the *umuD* allele of *Acinetobacter* species showed distinct grouping correlating with these combinations. It also indicated that in *Acinetobacter* the ancestral allele is *umuDAb*, while *E. coli* like *umuD-C* was acquired by horizonal gene transfer (Hare, Bradley, *et al.*, 2012). *umuDAb* and *ddrR* are indeed exclusive genes of the *Acinetobacter* genus, and encode proteins involved in the regulation of certain genes expression in response to DNA damage.

Regulators of the DNA damage response in *Acinetobacter spp.*

UmuDAb: The LexA structural homolog

All the *umuC, umuD* and *umuDAb* genes of the *A. baumannii* ATCC17978 showed variable level of basal expression besides the *umu*C gene whose basal expression was tightly regulated by RecA (Norton *et al.*, 2013). The expression of *umuDAb* is strongly induced in the presence of MMC in *A. baylyi* (Hare *et al.*, 2014) and in the presence of MMC, ciprofloxacin (CIP), or after UV treatment in *A. baumannii* ATCC17978 (Cook *et al.*, 2024; Norton *et al.*, 2013). In both species this induction upon DNA damage was RecA-dependent (Norton *et al.*, 2013; Hare *et al.*, 2014).

Compared to the UmuD protein from *E. coli*, the UmuDAb protein contains an extra amino-terminal domain (NTD) and shares 45% sequence identity with the *E. coli* full-length UmuD, and five additional residues adjacent to the catalytic lysine in its carboxy-terminal domain (CTD) (Hare *et al.*, 2006). In addition, UmuDAb shares 37% and 10% sequence identity with the CTD and NTD of LexA, respectively. Despite pretty low identity, the two proteins adopt a similar overall structure, featuring a HTH motif in their NTD domain, and a CTD with β-sheets (Witkowski *et al.*, 2016) (**Figure 2**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

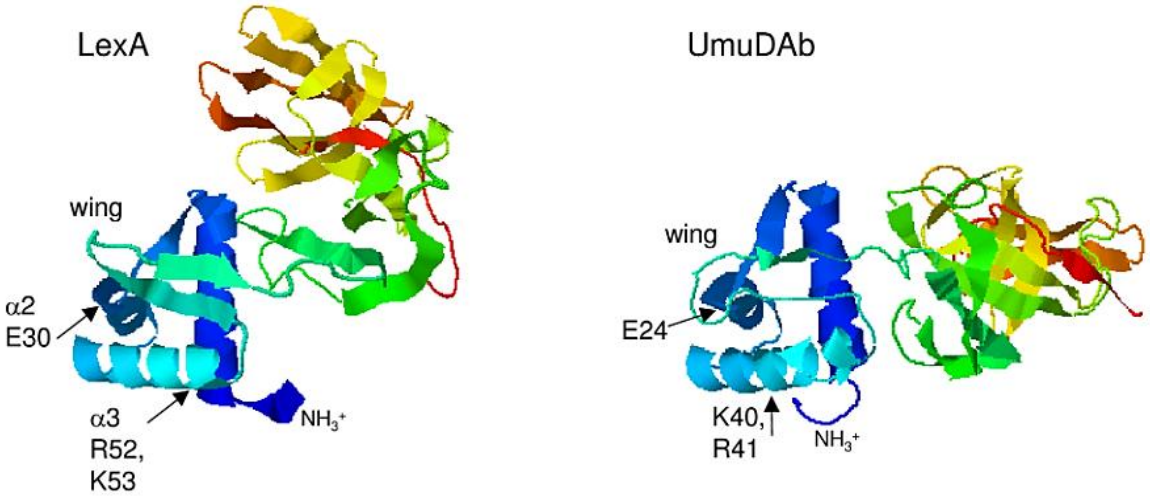


Figure 2: I-Tasser modeling of LexA and UmuDAb monomers

Modeling of the LexA protein from *E. coli* and the UmuDAb protein from *A. baumannii*, oriented to align the NTDs (in light blue) and showing the wing of the HTH structures. On the LexA protein, arrows point to some of the amino acids in the α2 and α3 helix (known as the recognition helix α3), required for DNA binding.

Similarly to LexA and *E. coli* UmuD, the UmuDAb protein forms dimers through its CTD (Cook *et al.*, 2021), and undergoes self-cleavage induced by the RecA*-ssDNA nucleofilament following DNA damage (MMC or UV treatment) (Aranda *et al.*, 2013; Hare, Adhikari, *et al.*, 2012; Hare, Bradley, *et al.*, 2012). Similar to LexA, RecA*-ssDNA induces self-cleavage of the free rather than the DNA-bound UmuDAb protein (Pavlin et al., 2022a) (J. P. McDonald et al., 1999). This cleavage is strictly intramolecular in UmuDAb (Aranda et al., 2013; Hare, Adhikari, et al., 2012b; Hare, Bradley, et al., 2012), mirroring LexA's self-cleavage mechanism, whereas it is intermolecular for *E. coli* UmuD (J. P. McDonald et al., 1999). In fact, although, UmuDAb shares more sequence identity with *E. coli* UmuD than with LexA, neither *A. baylyi* nor *A. baumannii* UmuDAb displays the function of the UmuD DNA polymerase V subunit; they act, rather as LexA, as transcriptional repressors (Witkowski *et al.*, 2016). Indeed, UmuDAb regulates the expression of the RecA-dependent DNA damage induced expression of *ddrR* (Hare *et al.*, 2006). Witkowski *et al.* showed that the UmuDAb NTD is required for the repression of *ddrR* and that mutations disrupting the UmuDAb NTD HTH structure allowed *ddrR* expression even in the absence of DNA damaging agents suggesting that UmuDAb could bind to DNA (Witkowski *et al.*, 2016). As a matter of fact, like LexA, UmuDAb binds to palindromic sequences of DNA through its NTD. However, the "SOS box" – palindromic sequence recognized by the LexA protein – consists of a 4-bases palindrome separated by an 8-bases spacer (Erill *et al.*, 2003), whereas the UmuDAb binding site is larger and more complex. A palindromic sequence was first identified in the promoter region of *ddrR-umuDAb* of *A. baylyi* (Hare *et al.*, 2006) (**Figure 3**). Then Aranda *et al.* showed that purified *A. baumannii* UmuDAb protein binds to a palindromic sequence present in its promoter (shared with *ddrR* gene) and in the promoters of the four others *A. baumannii umuC*, *umuDC* gene/operons, and

Licence CC BY-NC-ND 4.0

that a perfect palindromic sequence is required for optimal UmuDAb binding. A UmuDAb-binding consensus sequence TTGA(N)$_4$GTWAC(N)$_4$TCAA was established (Aranda *et al.*, 2013; Hare *et al.*, 2006), which not only contains the left- and right-"arm" of the palindromic sequence but also a central or core motif shown to be essential for UmuDAb binding (Aranda et al., 2013; Hare et al., 2006) Candra *et al.*, 2024). Mutations in the left or right arm do not prevent UmuDAb binding to its binding-site but the complex is less stable. However, the core and right-arm of UmuDAb binding sequence were shown to be essential for the repression of *ddrR* and *umudAb* in *A. baylyi* (Witkowski *et al.*, 2016). A recent study, showed that dimerisation of UmuDAb is important for optimal binding, and proposed that the binding of UmuDAb to DNA be more in line with a model of two adjacent operators' sites (composed of the core and one of the two arms) than one large binding site (Candra *et al.*, 2024) (**Figure 3**).

DdrR: A small corepressor

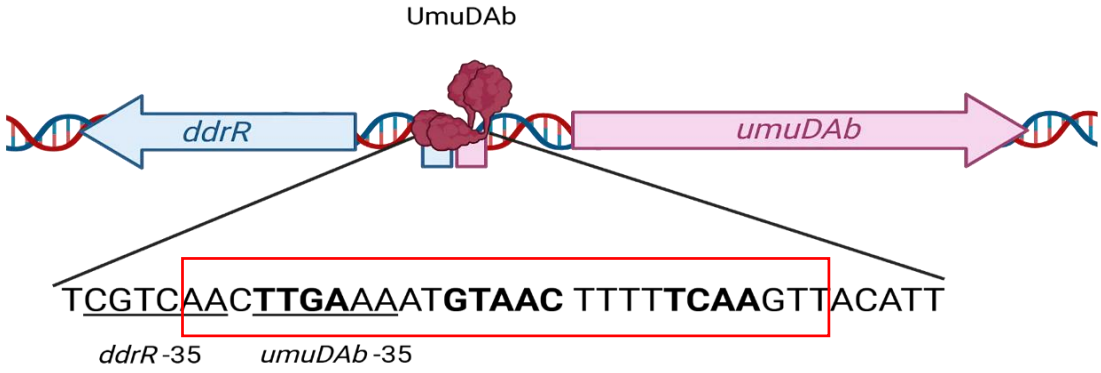


Figure 3: Sequence of the UmuDAb protein binding site and theoretical scheme of regulation of *ddrR* and *umuDAb* genes

The colored rectangle represents the promoter regions of the *ddrR* and *umuDAb* genes (in blue and pink respectively). A UmuDAb dimers is bound to its binding sequence

The sequence of the binding site of UmuDAb protein in *A. baylyi* is framed in red, and the left and right arm palindrome as well as the core sequence shown to be important for UmuDAb binding are shown in bold. The -35 box sequences of the two *ddrR* and *umuDAb* promoters are underlined.

The *ddrR* (DNA damage-inducible protein) gene encodes a small protein of unknown function of about 9 kD, unique to the genus *Acinetobacter*, which is produced in a RecA-dependent manner in response to DNA damage. The *ddrR* gene is adjacent to *umuDAb* but has a divergent orientation to it. The two genes share a 282 bp promoter region containing the UmuDAb binding site, located near the -35 region of the *ddrR* promoter and overlapping that of *umuDAb* (**Figure 3**) in strains *A. baylyi* ADP1 and *A. baumannii* ATCC17978 (Hare *et al.*, 2006; Peterson *et al.*, 2020). The DdrR protein predicted structure shows a CTD of 36 aa with 2 α-helices separated by a β-strand (**Figure 4A**) (Cook *et al.*, 2021). This structure is similar to the 36 aa NTD of gp7 (7 kDa) (**Figure 4B**) (Caveney *et al.*, 2019), a protein of the GIL01 bacteriophage of *Bacillus thuringiensis*. gp7 forms dimers and interacts with LexA to enhance

Licence CC BY-NC-ND 4.0

LexA binding to viral promoters to prevent lytic cycle (Fornelos *et al.*, 2011) as well as inhibiting LexA autoproteolysis (Fornelos *et al.*, 2015). The first attempts to study potential interactions between DdrR and UmuDAb using a two-hybrid approach, did not show interactions between the two proteins, but demonstrated the formation of DdrR dimers (in a mirror-image arrangement of DdrR monomers) (Cook *et al.*, 2021). Using a more sensitive approach (plasma resonance), Pavlin *et al.*, showed that DdrR could bind stably to UmuDAb through its CTD domain (Pavlin et al., 2022a). DdrR could also interact with the LexA proteins of B. *thuringiensis* and *Staphylococcus aureus*, but failed to interact with E. *coli* LexA (Pavlin et al., 2022a). Contrary to gp7 with LexA, DdrR does not prevent induction of UmuDAb self-cleavage by RecA*(Pavlin et al., 2022a).

DdrR plays a role in the regulation of certain genes following DNA damage (see next section), but it does not bind to DNA directly (Pavlin et al., 2022a). *In vitro,* DdrR seems to enhance UmuDAb binding to its binding site but only when in excess compare to UmuDAb (Candra *et al.*, 2024). *In vivo,* DdrR enhanced UmuDAb-mediated repression of *umuDAb* and other *umuDC* target operon and *umuC* gene in *A. baumannii* (Cook *et al.*, 2022).

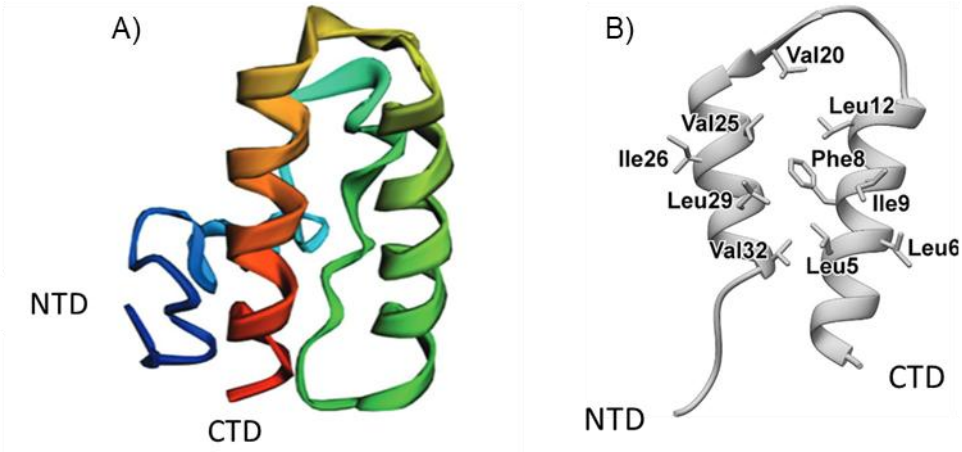


Figure 4: Structure of the DdrR protein of *A. baumannii* and the GIL01 gp7 protein from *B. thuringensis*

A) I-Tasser modeling of the DdrR protein showing the 2-helix structure with the NTD (in blue) and CTD (in yellow-red) (Cook *et al.*, 2021).

B) Crystal structure of the monomer GIL07 gp7 protein from *B. thuringensis* showing the 2-helix structure with the NTD and CTD. The residues indicated on the structure contribute to protein dimerization. (Caveney *et al.*, 2019)

EppR: A secondary repressor

Recently, a new repressor of *umuDAb* and the genes encoding error-prone DNA polymerase V (*umuDC* and *umuC*), called EppR, has been identified in *A. baumannii* (Nguyen *et al.*, 2025). EppR is part of the TetR family of transcriptional regulators, proteins that often repress gene expression by binding to DNA at specific sites (Macguire *et al.*, 2014).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

While studying the response to CIP of some DNA-damage induced genes in *A. baumannii* ATCC 17978, the Godoy's laboratory identified the UmuDAb palindromic consensus sequence in the promoter region of these genes and showed that mutations in this sequence (left-arm and core sequence) led to uncomplete derepression of the *umuDC* operon (Macguire *et al.*, 2014). Hypothesising the existence of additional regulator than UmuDAb, they performed a random mutagenesis of an *A. baumannii* strain carrying a *umuDC* chromosomal GFP reporter (Macguire *et al.*, 2014), and identified a TetR family of transcriptional regulator, named EppR (Error-prone polymerase regulator) (Nguyen *et al.*, 2025). This 15-20 kDa protein is composed of two domains that are conserved in the TetR-like family proteins a NTD that contains a HTH DNA-binding motif and a dimerization CTD domain that usually also serves as ligand sensing (Yu *et al.*, 2010) (**Figure 5A**). As known for TetR-like regulators, EppR protein forms dimers that binds to an inverted repeat sequence (**Figure 5 B**). It binds with high affinity to its own promoter, which contains two inverted repeats, and with lower affinity to the promoter of *umuDAb* and of the genes encoding error-prone DNA polymerase V, all containing only one inverted repeat sequence (Nguyen *et al.*, 2025). Interestingly, these promoters, as well as, the *eppR* downstream of the EppR binding site for the genes encoding error-prone DNA polymerase V (*umuDC, umuC*), and overlaps with the EppR binding site for the *umuDAb* and *eppR* promoters (Nguyen *et al.*, 2025). EppR co-regulates with UmuDAb the expression of both the DNA polymerase V genes (*umuDC* and *umuC*) and themselves (*eppR* and *umuDAb*), UmuDAb acting as the primary repressor and EppR as a secondary repressor.

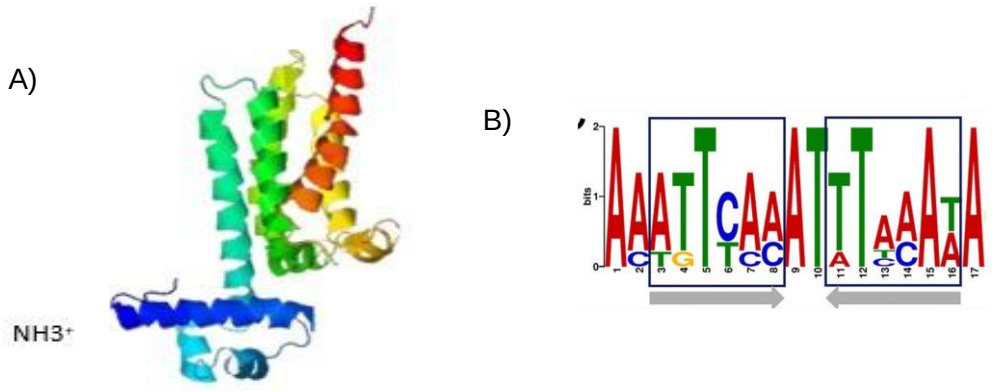


Figure 5: EppR structure and binding site

A. I-Tasser modelling of the EppR protein showing an NTD domain with an HTH DNA-binding motif and a CTD domain responsible for dimerization and possibly ligand detection, as observed in proteins of the TetR family.

B. EppR consensus binding sites. (Nguyen *et al.*, 2025)

Regulation of the DNA damage response in *Acinetobacter*

Several approaches (semi-quantitative RT-qPCR, microaarays, RNA-seq) have been used to identify the DDR regulon in *Acinetobacter*, mainly in the non-pathogenic *A. baylyi* ADP1 and pathogenic *A.* baumannii 17978 strains. RNA-seq experiments were performed to decipher the

Licence CC BY-NC-ND 4.0

DDR in strains *A. baylyi* ADP1 and *A. baumannii* ATCC17978 JH after MMC treatment, and showed that the two species respond differently to MMC induced DNA damages (see below) (Hare *et al.*, 2014).

Moreover, in these two strains, in addition to the *lexA* gene, thirteen other genes belonging to *the E. coli* SOS regulon (*dinI, dinG, hokE, molR, pcsA, polB, sbmC, sulA, ybfE, ydjM, ydjQ, yebG, yigN*) are absent from their genome. However, a core set of six SOS genes for gamma-proteobacteria is present (*recA, ssb, ruvA, ruvB, recN* and *uvrA*) as well as 36 other genes of the SOS regulon (Hare *et al.*, 2014). Some SOS genes can be found in one species and not in the other, such as the polymerase V encoding genes, absent in *A. baylyi* ADP1 while *A. baumannii* 17978 carries several alleles of *umuC* and *umuD.* These alleles are found in cryptic prophages located in the chromosome of 17978.

DDR in A. baylyi

As mentioned above, one of the first gene, after *recA*, identified as being induced by DNA damage in the *Acinetobacter genus,* was *ddrR* in *A. baylyi* (Hare *et al.*, 2006). In that study, they found that the *umuDAbC* operon was constitutively expressed in a RecA-independent manner and that its expression was not sensitive to DNA damaging agents (MMC) (Hare *et al.*, 2006). Subsequently, Hare et al performed RNA-seq experiment to decipher the DDR in strains *A. baylyi* ADP1 and *A. baumannii* ATCC17978 JH after MMC treatment, and the role of RecA and UmuDAb in this regulation (Hare *et al.*, 2014). The DDR transcriptome of *A. baylyi*, showed that MMC treatment not only induced the expression of 2% (66 genes) of all ADP1 genes, but it also repressed 38,4% of all ADP1 genes. All these genes were distributed across the chromosome. DDR genes included around one third only of the 36 genes of the SOS regulon (see above): six were induced (including the core SOS genes, *recA*, *ssb*, *ruvA* and *uvrA*), seven (including *recN*) were repressed and nine (including *ruvB*) did not show differential expression after MMC treatment. Among the induced genes outside the SOS regulon, there were genes coding chaperones, proteins involved in various stresses, in nucleotide metabolism, detoxification enzymes (*aphC* and *gst,* the most induced gene, encoding a glutathione transferase involved in protection against oxidative stress and in xenobiotic/antibiotic detoxification (Allocati *et al.*, 2009)), an adaptive immunity cascade protein associated to CRISPR/Cas system as well as the *umuDAb* and *ddrR* (the 2nd most induced) genes. The discrepancy between the two studies of Hare *et al.* (Hare *et al.*, 2006, 2014), about DDR regulation of *umuDAb* and *ddrR* in *A. baylyi* ADP1, probably came from mutations present in the promoter region of *ddrR* and *umuDAb* of the ADP1 strain (JH100) (Peterson *et al.*, 2020) used in the earlier study (Hare *et al.*, 2006). These mutations are probably interfering with the binding of UmuDAb and its repressive role leading to the erroneous conclusion that expression of the *umuDAbC* operon was constitutive and RecA-independent.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Interestingly, in ADP1, MMC-induced genes were distributed across four different regulons. Twelve genes were regulated by both RecA and UmuDAb (such as *umuDAb* and *ddrR*), eight genes regulated by RecA only (such as *uvrA, ruvA, dnaN*), 26 genes regulated by neither protein (such as *ssb, recA, gst or nrdA*) and nine genes regulated only by UmuADb (Norton *et al.*, 2013). Most of the repressed genes required only UmuDAb to be repressed (87%) while the others required both proteins or neither. The role of DdrR on DDR in *A. Baylyi* has not been investigated at a global scale, but RT-qPCR experiments showed that DdrR regulates the expression of *umuDAb* in strain ADP1, but not that of *gst* or *nrdA* (Norton *et al.*, 2013), 2 DDR induced genes independently of UmuDAb.

Overall, DDR in *A. baylyi* is complex, multilayered, and involves: RecA-dependent and RecA-independent regulons, UmuDAb acting as a repressor or activator and potentially DdrR.

DDR in A. baumannii 17978

A first attempt to identify the DDR regulon in *A. baumannii* strain ATCC17978 used semi-quantitative RT-PCR experiments that showed induction of all *umuD* and *umuC* as well as *umuDAb* and *recA* genes upon MMC, CIP treatment and UV exposure (Norton *et al.*, 2013). These results were confirmed and extended by studies analyzing DDR of *A. baumannii* 17978 in response to MMC treatment and the role of *umuDAb, ddrR* or *recA,* using microarrays or RNA-seq transcriptomic analysis (Aranda *et al.*, 2013; Hare *et al.*, 2014; Peterson *et al.*, 2020). These latter studies further showed that as with *A. baylyi*, the DDR of A*. baumannii* is complex with induced and repressed genes, but different from that of ADP1. Indeed, contrary to *A. baylyi*, in 17978 all MMC-induced genes besides *recA*, showed a RecA-dependent induction. Furthermore, more than 90% of these genes were found within regions containing cryptic prophages (CP5, CP9 and CP14) (Di Nocera *et al.*, 2011), one was in the pAB3 plasmid (Cook *et al.*, 2024; Hare *et al.*, 2014). MMC-induction of cryptic prophages in 17978 JH led to the production of bacteriophages particles (Hare *et al.*, 2014).

Activation of the DDR after MMC treatment, in *A. baumannii* 17978 JH and its derivatives, resulted in the differential upregulation and downregulation of respectively 175 and 55 genes in the wild-type (WT) strain, 238 and 131 genes in the *ddrR* mutant and 223 and 10 genes in

Licence CC BY-NC-ND 4.0

the *umuDAb* mutant (Cook *et al.*, 2024) (**Figure 6**). A substantial proportion of the induced genes in the *ddrR* mutant showed similar expression patterns to those in the WT strain.

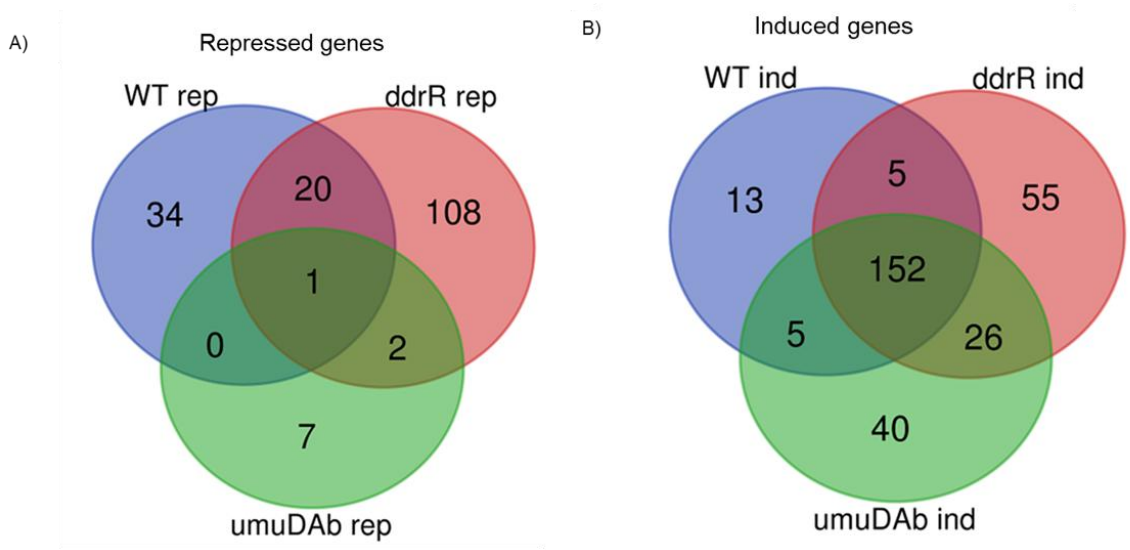


Figure 6: Venn diagram of differential gene expression

Representation of the number of genes expressed (A) or repressed (B) induced after treatment with MMC in the auvage strain of A. baumannii 17978 JH (WT) and in its mutants for the ddrR and umuDAb genes.

Of the 175 induced genes in the WT strain after DDR, 23 induced genes were controlled by UmuDAb and/or DdrR with all error-prone polymerase V genes (*umuDC operons*, *umuD* and *umuC* genes), two genes that are potentially part of *umuDC* operons, one CP9 prophage repressor *esvI*, as well as *umuDAb* and *ddrR,* being coregulated by both proteins. 121 genes were not induced upon MMC treatment in the WT strain but were induced in the *ddrR* and *UmuDAb* mutants: 55 in the *ddrR* mutant only, including the core SOS gene *ruvB*, *uvrC* and *recX*;, 40 in the *umuDAb* mutant including eleven ribosomal proteins and translational related factors, and 26 in both mutants (including *uvrA* and *ruvA*) (Cook *et al.*, 2024). More than half of the induced genes had their basal expression levels altered in *ddrR* or *UmuDAb* mutants compared to WT. Half of the 40 genes induced only in *umuDAb* had basal expression upregulated in the *ddrR* mutant

Of the 55 genes that were repressed upon MMC treatment: one was repressed in the WT strain independently of UmuDAb and DdrR, 20 required UmuDAb for repression and 34 required both UmuDAb and DdrR (Cook *et al.*, 2024). Surprisingly, 117 genes were repressed in response to DNA damage, only in the *UmuDAb* (seven genes) or in the *ddrR* mutants (108 genes) but not in the WT strain, two genes being repressed in both mutants. Of the genes repressed in the *ddrR* mutant, around half had dysregulated basal levels higher than in WT, these include genes in pathways for amino, fatty acid/lipid and cell structure synthesis, amino-acid degradation, translation, RNA metabolism, copper resistance,… few had basal levels

Licence CC BY-NC-ND 4.0

lower than WT (genes involved in aerobic respiration, adhesion and pilus production) and the remaining half had similar basal to WT. None of these genes were in cryptic prophage.

Actually, basal gene expression was impacted in the *ddrR* mutant compare to WT in the absence of DNA damages: 23% of the genome (888 genes) had upregulated basal and 32,1% (1 241 genes) downregulated compared to WT. Among the upregulated genes there were many pathways involved from cell division, DNA replication to lipid metabolism imports signal transduction, transcriptional repressor, stringent response, etc. Among the downregulated genes in *ddrR*/WT: 37% of the AbaAL44 genes, 80% of the prophage's genes, numerous transcriptional regulators/repressors, various transporters and metabolism pathways, amino-acid biosynthesis and metabolism as well as genes involved in biofilms formation, fimbriae, pilus, efflux pumps, and oxidative and desiccation stress-related genes.

These results illustrate the complex nature of the DDR in *A. baumannii* and suggest different regulatory roles for *ddrR* and *umuDAb*. The enhanced transcriptional response of the *ddrR* mutant suggests that DdrR may act as a modulator of the DDR, affecting not only error-prone polymerases but also genes involved in diverse cellular processes. Conversely, the reduced number of downregulated genes in the *umuDAb* mutant suggests a more specialized role for UmuDAb in gene repression during the DDR.

Overall *A. baumannii* display at least four DDR induced regulons: one depending only on RecA, one depending on both RecA and UmuDAb, one depending on both RecA and DdrR, and one depending on RecA, UmuDAb and DdrR (23 genes including all error-prone polymerases as well as *ddrR* and *umuDAb*).

Functional outcome of the DDR

It is known that some antibiotics, such as trimethoprim (inhibition of purine and pyrimidine synthesis) (Lewin & Amyes, 1991), quinolones (inhibition of DNA gyrase and topoisomerase IV) (Pohlhaus & Kreuzer, 2005) and MMC (causes T-T cross-links leading to DNA breaks), can have a direct or indirect impact on the replication of DNA, and would also, generally, induce the SOS response even at sub-inhibitory concentrations for some of them (Baharoglu & Mazel, 2014). This mechanism plays a significative role in the emergence and dissemination of antibiotic resistance due to the fact that these concentrations do not kill bacteria but can activate the SOS response and thus promote the acquisition of adaptative mutations (Gullberg *et al.*, 2011; Kohanski *et al.*, 2010). SOS response can also trigger the transfer or acquisition of genetic material and antibiotic resistance genes. The *Vibrio cholerae* integrating conjugative element (ICE), SXT, or the integrative mobilizable *Salmonella* genomic island 1 (SGI1) that carries antibiotic resistance genes, can be transfer when the SOS response in induced (Beaber et al., 2004; Pons et al., 2022). Expression of the class 1 integron integrase gene, that allow

Licence CC BY-NC-ND 4.0

the capture and shuffling of resistance genes within the integron, is repressed by the LexA protein and induced upon DNA damages (Guerin *et al.*, 2009). Therefore, activation of the SOS response can promote the emergence of antibiotic resistance through several mechanisms: induction of mutagenesis and dissemination, acquisition of resistance via mobile genetic elements or integrons. In *A. baumannii*, the response to DNA damage is found to be associated with the selection of resistance genes by mutagenesis through the action of the DNA pol V (Aranda *et al.*, 2011; Norton *et al.*, 2013). Unlike *A. baylyi* ADP1, most *Acinetobacter* species carry several *umuDC*, however only *A. baumannii, A. ursingii* and *A. beijerinckii* showed UV-induced mutagenesis (Hare, Adhikari, et al., 2012a), suggesting that mutagenesis induced by DDR could be a driver of the evolution of the emerging pathogen *A. baumannii* and *A. ursingii*. Although there are no studies relating DDR to the mobilization of mobile genetic elements in *A. baumannii*, our preliminary unpublished results indicate that UmuDAb could regulate class 1 integron integrase in *A. baumannii.*

Interestingly, some of the genes encoding error-prone DNA pol V in *A. baumannii* as well as the majority of DDR induced genes (including virulence genes *esvI, esvK*) are found in prophages regions in the bacterial chromosome (Hare, Bradley, *et al.*, 2012; Hare *et al.*, 2014). These prophages can contribute to the organism's adaptability and potential virulence by the production of bacteriophage particle (Hare *et al.*, 2014) ; which may facilitate horizontal gene transfer of virulence and resistance determinants potentially enhancing the bacterium's ability to adapt to environmental stresses and antibiotics. This unique feature of *A. baumannii* DDR underscores the complex and evolutionary refined nature of its stress response mechanisms.

Conclusion

The DDR in *Acinetobacter spp.* represents a unique and adaptable mechanism that markedly differs from the canonical SOS response observed in the majority of bacterial species and displays specific characteristics. In the absence of LexA, *Acinetobacter* species have evolved alternative regulatory networks to coordinate the DDR with specific regulators: UmuDAb (LexA structural homolog) and DdrR (small corepressor) which together with RecA play, key roles in controlling of the expression of DDR-related genes in A*. baylyi* and *A. baumannii,* and a secondary regulator EppR (a TetR-family DNA-binding repressor) identified in *A. baumannii*. DDR in *A. baylyi* and *A. baumannii* not only leads to gene expression induction but also to the repression of a substantial number of genes. These two *Acinetobacter* species seem to have evolved complex but different multi-layered DDR: both species have at least four regulons of induced genes relaying on one or several of the DDR regulators. **Figure 7** attempts to summarize DDR regulation in *A. baumannii.*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

The UmuDAb protein acts as the main regulator of the DNA damage induced mutagenesis *in A. baumannii* under stress conditions such as antibiotic exposure or UV radiation. It represses the expression of all genes encoding error-prone polymerases as well as its own gene and those encoding DdrR and EppR, both of which work with UmuDAb to maintain tight control over mutagenic polymerase expression: DdrR by interacting with UmuDAb enhancing its binding to DNA, and EppR by binding to DNA in the target genes promoters also repressing their expression. This controlled expression of error-prone polymerases allows the bacteria to balance DNA repair and event to adapt to antibiotics pressure. This mutagenic capability enhances the pathogen's adaptability and can contributes to its multidrug resistance (Candra *et al.*, 2024; Cook *et al.*, 2022).

Although UmuDAb and EppR seem to have a specialized role in repressing error-prone polymerases, additional regulators may participate in transcriptional response to DNA in *Acinetobacter genus.* DdrR appears to play a more important role than simply co-regulating low-fidelity polymerases. DdrR protein functions as both a co-repressor and as a positive regulator of DNA-damage-inducible genes. Furthermore, this small protein appears to affect the expression of numerous genes not only in response to DNA damages (quorum sensing genes, efflux pumps, pilus production, RNA transcription and translation and other metabolic processes) (Cook *et al.*, 2024).

The involvement of EppR, and possibly other potential regulatory proteins, introduces an additional level of regulatory control. This is particularly important in *A. baumannii*, which, unlike *E. coli*, has multiple copies of the *umuDC* operon (specifically two copies of *umuDC* and two copies of *umuC*) (Norton et al., 2013).
Finally, the study of the DDR in *Acinetobacter* highlights a complex mechanism, involving several transcriptional regulators, that has not yet been fully elucidated.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

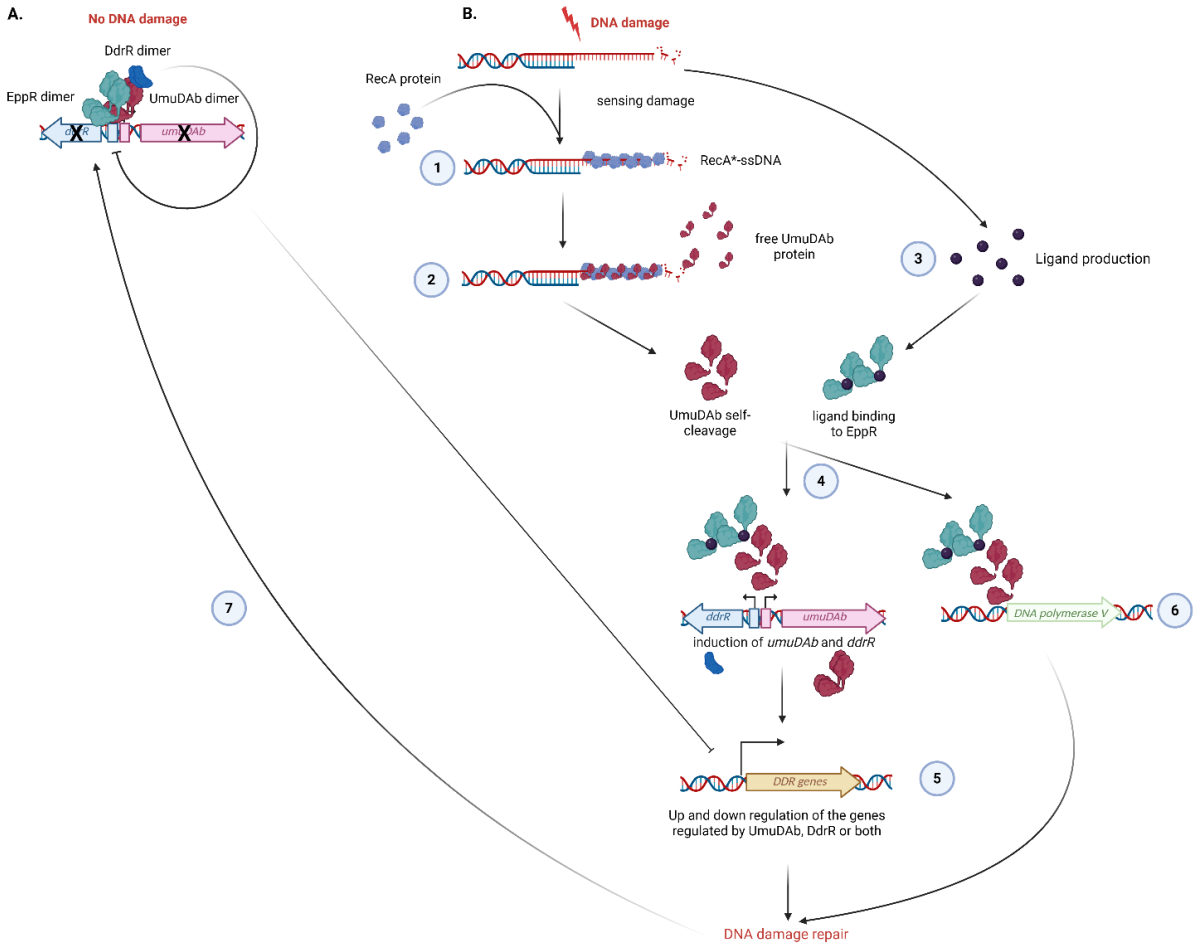


Figure 7: Summary diagram of the response to DNA damage in Acinetobacter spp.

A. When no DNA damage is present, the *umuDAb* and *ddrR* genes are transcriptionally repressed by the binding of a UmuDAb protein dimer to their promoter regions; this binding is stabilized and promoted by the DdrR protein acting as a corepressor. Additionally, the *umuDAb* gene repression involves binding of the EppR protein dimer, which represses *umuD*, *umuC*, and *umuDAb* genes collectively.

B. (1) Upon DNA damage, single-stranded DNA (ssDNA) is generated and recognized by RecA, which forms the active RecA*-ssDNA nucleoprotein filament. (2) This filament sequesters UmuDAb monomers, reducing their intracellular concentration and triggering UmuDAb autocatalytic cleavage. (3) Concurrently, ssDNA triggers production of an unidentified ligand that binds to EppR monomers leading to a conformational change of the protein, alleviating their repression effect on *umuDAb* expression.

(4) The autocleavage of UmuDAb relieves repression of the DNA damage response (DDR) regulon genes normally controlled by UmuDAb, allowing their expression. (5) Subsequently, newly synthesized UmuDAb and DdrR proteins coordinate repression of genes downregulated during the response, thereby fine-tuning the response. (6) Expression of key DDR genes, including *umuC* and *umuD*, facilitates DNA repair, (7) which ultimately restores repression of the DDR genes along with *umuDAb*, *ddrR*, and *eppR* themselves, reestablishing homeostasis.

This regulatory cascade exemplifies a tightly controlled system wherein UmuDAb and its coregulators modulate the bacterial DNA damage response via interplay between transcriptional repression, protein autocleavage, and

426

427

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Acknowledgements

This work was supported by grants from Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm) and Région Nouvelle Aquitaine (Région NA). ALG was supported by doctoral fellowship and Région NA. The authors declare no conflict of interest.

Bibliography

Allocati, N., Federici, L., Masulli, M., & Di Ilio, C. (2009). Glutathione transferases in bacteria. *The FEBS Journal*, *276*(1), 58-75. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06743.x

Aranda, J., Bardina, C., Beceiro, A., Rumbo, S., Cabral, M. P., Barbé, J., & Bou, G. (2011). Acinetobacter baumannii RecA protein in repair of DNA damage, antimicrobial resistance, general stress response, and virulence. *Journal of Bacteriology*, *193*(15), 3740-3747. https://doi.org/10.1128/JB.00389-11

Aranda, J., Poza, M., Shingu-Vázquez, M., Cortés, P., Boyce, J. D., Adler, B., Barbé, J., & Bou, G. (2013). Identification of a DNA-Damage-Inducible Regulon in Acinetobacter baumannii. *Journal of Bacteriology*, *195*(24), 5577-5582. https://doi.org/10.1128/JB.00853-13

Baharoglu, Z., & Mazel, D. (2014). SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiology Reviews*, *38*(6), 1126-1145. https://doi.org/10.1111/1574-6976.12077

Candra, B., Cook, D., & Hare, J. (2024). Repression of Acinetobacter baumannii DNA damage response requires DdrR-assisted binding of UmuDAb dimers to atypical SOS box. *Journal of Bacteriology*, *206*(6), e00432-23. https://doi.org/10.1128/jb.00432-23

Charpentier, X., Kay, E., Schneider, D., & Shuman, H. A. (2011). Antibiotics and UV Radiation Induce Competence for Natural Transformation in Legionella pneumophila. *Journal of Bacteriology*, *193*(5), 1114-1121. https://doi.org/10.1128/JB.01146-10

Cook, D., Flannigan, M. D., Candra, B. V., Compton, K. D., & Hare, J. M. (2022). The DdrR Coregulator of the Acinetobacter baumannii Mutagenic DNA Damage Response Potentiates UmuDAb Repression of Error-Prone Polymerases. *Journal of Bacteriology*, *204*(11), e0016522. https://doi.org/10.1128/jb.00165-22

Cook, D., Flannigan, M. D., Chariker, J. H., & Hare, J. M. (2024). DNA damage response coregulator ddrR affects many cellular pathways and processes in Acinetobacter baumannii 17978. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2023.1324091

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Costa de Oliveira, R., Laval, J., & Boiteux, S. (1987). Induction of SOS and adaptive responses by alkylating agents in *Escherichia coli* mutants deficient in 3-methyladenine-DNA glycosylase activities. *Mutation Research/DNA Repair Reports*, *183*(1), 11-20. https://doi.org/10.1016/0167-8817(87)90040-X

Courcelle, J., Khodursky, A., Peter, B., Brown, P. O., & Hanawalt, P. C. (2001). Comparative Gene Expression Profiles Following UV Exposure in Wild-Type and SOS-Deficient Escherichia coli. *Genetics*, *158*(1), 41-64. https://doi.org/10.1093/genetics/158.1.41

Crowley, D. J., & Courcelle, J. (2002). Answering the Call : Coping with DNA Damage at the Most Inopportune Time. *BioMed Research International*, *2*(2), 914746. https://doi.org/10.1155/S1110724302202016

Di Nocera, P. P., Rocco, F., Giannouli, M., Triassi, M., & Zarrilli, R. (2011). Genome organization of epidemic Acinetobacter baumanniistrains. *BMC Microbiology*, *11*(1), 224. https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-224

Erill, I., Campoy, S., & Barbé, J. (2007). Aeons of distress : An evolutionary perspective on the bacterial SOS response. *FEMS Microbiology Reviews*, *31*(6), 637-656. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00082.x

Erill, I., Escribano, M., Campoy, S., & Barbé, J. (2003). In silico analysis reveals substantial variability in the gene contents of the gamma proteobacteria LexA-regulon. *Bioinformatics (Oxford, England)*, *19*(17), 2225-2236. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg303

Giese, K. C., Michalowski, C. B., & Little, J. W. (2008). RecA-Dependent Cleavage of LexA Dimers. *Journal of Molecular Biology*, *377*(1), 148-161. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.12.025

Gregg-Jolly, L. A., & Ornston, L. N. (1994). Properties of Acinetobacter calcoaceticus recA and its contribution to intracellular gene conversion. *Molecular Microbiology*, *12*(6), 985-992. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb01086.x

Guerin, É., Cambray, G., Sanchez-Alberola, N., Campoy, S., Erill, I., Da Re, S., Gonzalez-Zorn, B., Barbé, J., Ploy, M.-C., & Mazel, D. (2009). The SOS Response Controls Integron Recombination. *Science*, *324*(5930), 1034-1034. https://doi.org/10.1126/science.1172914

Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., & Andersson, D. I. (2011). Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens*, *7*(7), e1002158. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158

Licence CC BY-NC-ND 4.0

494 Ha, V. N., Huy, H. T., Đac, T. N., Nguyen, P. A., & Cuong, L. D. (2024). Genomic epidemiology
495 and resistant genes of Acinetobacter baumannii clinical strains in Vietnamese
496 hospitals. *Journal of Medical Microbiology*, *73*(10), 001922.
497 https://doi.org/10.1099/jmm.0.001922

498 Hare, J. M., Adhikari, S., Lambert, K. V., Hare, A. E., & Grice, A. N. (2012). The Acinetobacter
499 regulatory UmuDAb protein cleaves in response to DNA damage with chimeric
500 LexA/UmuD characteristics. *FEMS Microbiology Letters*, *334*(1), 57-65.
501 https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02618.x

502 Hare, J. M., Bradley, J. A., Lin, C., & Elam, T. J. (2012). Diverse responses to UV light exposure
503 in Acinetobacter include the capacity for DNA damage-induced mutagenesis in the
504 opportunistic pathogens Acinetobacter baumannii and Acinetobacter ursingii.
505 *Microbiology*, *158*(Pt 3), 601-611. https://doi.org/10.1099/mic.0.054668-0

506 Hare, J. M., Ferrell, J. C., Witkowski, T. A., & Grice, A. N. (2014). Prophage induction and
507 differential RecA and UmuDAb transcriptome regulation in the DNA damage responses
508 of Acinetobacter baumannii and Acinetobacter baylyi. *PloS One*, *9*(4), e93861.
509 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093861

510 Hare, J. M., Perkins, S. N., & Gregg-Jolly, L. A. (2006). A constitutively expressed, truncated
511 umuDC operon regulates the recA-dependent DNA damage induction of a gene in
512 Acinetobacter baylyi strain ADP1. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(6),
513 4036-4043. https://doi.org/10.1128/AEM.02774-05

514 Henrikus, S. S., van Oijen, A. M., & Robinson, A. (2018). Specialised DNA polymerases in
515 Escherichia coli : Roles within multiple pathways. *Current Genetics*, *64*(6), 1189-1196.
516 https://doi.org/10.1007/s00294-018-0840-x

517 Horii, T., Ogawa, T., Nakatani, T., Hase, T., Matsubara, H., & Ogawa, H. (1981). Regulation
518 of SOS functions : Purification of E. coli LexA protein and determination of its specific
519 site cleaved by the RecA protein. *Cell*, *27*(3), 515-522. https://doi.org/10.1016/0092-
520 8674(81)90393-7

521 Khil, P. P., & Camerini-Otero, R. D. (2002). Over 1000 genes are involved in the DNA damage
522 response of Escherichia coli. *Molecular Microbiology*, *44*(1), 89-105.
523 https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02878.x

524 Kohanski, M. A., DePristo, M. A., & Collins, J. J. (2010). Sublethal Antibiotic Treatment Leads
525 to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. *Molecular Cell*, *37*(3),
526 311-320. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.003

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Kreuzer, K. N. (2013). DNA Damage Responses in Prokaryotes : Regulating Gene Expression, Modulating Growth Patterns, and Manipulating Replication Forks. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *5*(11), a012674. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012674

Lewin, C. S., & Amyes, S. G. (1991). The role of the SOS response in bacteria exposed to zidovudine or trimethoprim. *Journal of Medical Microbiology*, *34*(6), 329-332. https://doi.org/10.1099/00222615-34-6-329

Little, J. W., & Mount, D. W. (1982). The SOS regulatory system of Escherichia coli. *Cell*, *29*(1), 11-22. https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90085-X

Maslowska, K. H., Makiela-Dzbenska, K., & Fijalkowska, I. J. (2019). The SOS system : A complex and tightly regulated response to DNA damage. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, *60*(4), 368-384. https://doi.org/10.1002/em.22267

Mazón, G., Lucena, J. M., Campoy, S., Fernández de Henestrosa, A. R., Candau, P., & Barbé, J. (2004). LexA-binding sequences in Gram-positive and cyanobacteria are closely related. *Molecular Genetics and Genomics*, *271*(1), 40-49. https://doi.org/10.1007/s00438-003-0952-x

Mo, C. Y., Birdwell, L. D., & Kohli, R. M. (2014). Specificity Determinants for Autoproteolysis of LexA, a Key Regulator of Bacterial SOS Mutagenesis. *Biochemistry*, *53*(19), 3158-3168. https://doi.org/10.1021/bi500026e

Movahedzadeh, F., Colston, M. J., & Davis, E. O. (1997). Characterization of Mycobacterium tuberculosis LexA : Recognition of a Cheo (Bacillus-type SOS) box. *Microbiology*, *143*(3), 929-936. https://doi.org/10.1099/00221287-143-3-929

Nguyen, B., Ching, C., MacGuire, A., Casula, P., Newman, C., Finley, F., & Godoy, V. G. (2025). Identification of EppR, a Second Repressor of Error-Prone DNA Polymerase Genes in Acinetobacter baumannii. *Molecular Microbiology*, *124*(1), 20-39. https://doi.org/10.1111/mmi.15368

Norton, M. D., Spilkia, A. J., & Godoy, V. G. (2013). Antibiotic resistance acquired through a DNA damage-inducible response in Acinetobacter baumannii. *Journal of Bacteriology*, *195*(6), 1335-1345. https://doi.org/10.1128/JB.02176-12

Pavlin, A., Bajc, G., Fornelos, N., Browning, D. F., & Butala, M. (2022). The Small DdrR Protein Directly Interacts with the UmuDAb Regulator of the Mutagenic DNA Damage Response in Acinetobacter baumannii. *Journal of Bacteriology*, *204*(3), e0060121. https://doi.org/10.1128/jb.00601-21

Licence CC BY-NC-ND 4.0

559 Peterson, M. A., Grice, A. N., & Hare, J. M. (2020). A corepressor participates in LexA-
560 independent regulation of error-prone polymerases in Acinetobacter. *Microbiology*,
561 *166*(2), 212-226. https://doi.org/10.1099/mic.0.000866

562 Pohlhaus, J. R., & Kreuzer, K. N. (2005). Norfloxacin-induced DNA gyrase cleavage
563 complexes block Escherichia coli replication forks, causing double-stranded breaks in
564 vivo. *Molecular Microbiology*, *56*(6), 1416-1429. https://doi.org/10.1111/j.1365-
565 2958.2005.04638.x

566 Pons, M. C., Praud, K., Da Re, S., Cloeckaert, A., & Doublet, B. (2022). Conjugative IncC
567 Plasmid Entry Triggers the SOS Response and Promotes Effective Transfer of the
568 Integrative Antibiotic Resistance Element SGI1. *Microbiology Spectrum*, *11*(1),
569 e02201-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.02201-22

570 Prakash, L. (1974). Lack of chemically induced mutation in repair-defiecient mutants of yeast.
571 *Genetics*, *78*(4), 1101-1118. https://doi.org/10.1093/genetics/78.4.1101

572 Prudhomme, M., Attaiech, L., Sanchez, G., Martin, B., & Claverys, J.-P. (2006). Antibiotic
573 stress induces genetic transformability in the human pathogen Streptococcus
574 pneumoniae. *Science (New York, N.Y.)*, *313*(5783), 89-92.
575 https://doi.org/10.1126/science.1127912

576 Radman, M. (1975). SOS Repair Hypothesis : Phenomenology of an Inducible DNA Repair
577 Which is Accompanied by Mutagenesis. In P. C. Hanawalt & R. B. Setlow (Éds.),
578 *Molecular Mechanisms for Repair of DNA* (p. 355-367). Springer US.
579 https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2895-7_48

580 Rauch, P. J. G., Palmen, R., Burds, A. A., Gregg-Jolly, L. A., van der Zee, J. R., & Hellingwerf,
581 K. J. (1996). The expression of the Acinetobacter calcoaceticus recA gene increases
582 in response to DNA damage independently of RecA and of development of
583 competence for natural transformation. *Microbiology (Reading, England)*, *142 (Pt 4)*,
584 1025-1032. https://doi.org/10.1099/00221287-142-4-1025

585 Witkowski, T. A., Grice, A. N., Stinnett, D. B., Wells, W. K., Peterson, M. A., & Hare, J. M.
586 (2016). UmuDAb : An Error-Prone Polymerase Accessory Homolog Whose N-Terminal
587 Domain Is Required for Repression of DNA Damage Inducible Gene Expression in
588 Acinetobacter baylyi. *PloS One*, *11*(3), e0152013.
589 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152013

590 Zhang, A. P. P., Pigli, Y. Z., & Rice, P. A. (2010). Structure of the LexA-DNA complex and
591 implications for SOS box measurement. *Nature*, *466*(7308), 883-886.
592 https://doi.org/10.1038/nature09200

Licence CC BY-NC-ND 4.0

593 Zverlov, V. V., & Schwarz, W. H. (1999). Organization of the Chromosomal Region Containing
594 the Genes *lexA* and *topA* in *Thermotoga neapolitana*. Primary Structure of LexA
595 Reveals Phylogenetic Relevance. *Systematic and Applied Microbiology*, *22*(2),
596 174-178. https://doi.org/10.1016/S0723-2020(99)80063-0
597

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Présentation du travail de thèse

L'augmentation des cas d'infections par des micro-organismes résistants, fait de la résistance aux antimicrobiens un problème majeur de santé publique. En effet, une étude parue en 2022 à estimer qu'en 2019, 4.95 millions de décès étaient associés à des bactéries résistantes aux antimicrobien dont 1.27 millions de décès directement attribuable à ces bactéries. Il a été estimé qu'à l'horizon 2050 ce chiffre sera de prêt de 10 millions faisant de la résistance aux antimicrobiens la cause de mortalité principale. De ce fait, la nécessité de développer de nouveaux ATBs ainsi que des alternatives thérapeutiques ce fait de plus en plus urgent.

C'est au sein de cette dynamique de lutte contre la résistance aux antimicrobiens que s'inscrit le travail de notre équipe de recherche. Ainsi, *A. baumannii* est une espèce très étudiée du fait de sa multi-résistance et de son implication dans les infections nosocomiales au sein, généralement, des centres de soins intensifs. Les autres espèces du genre, souvent regroupées sous la notion de *Acinetobacter* non-*baumannii*, restent peu étudiées malgré l'augmentation du nombre d'infections, en clinique humaine, associées à certaines de ces espèces qui peuvent présenter des profils de multirésistance aux ATBs. Les IMs représentent, dans ce contexte d'étude des mécanismes d'acquisition et de dissémination des GRAs, un modèle d'étude intéressant. Chez l'espèce *E. coli*, la régulation des intégrons, et en particulier les voies de régulation du gène de l'intégrase et des CGs durant la réponse SOS, a été largement étudiée. Cependant cette régulation reste encore peu décrite chez *A. baumannii*.

Des résultats préliminaires obtenus au laboratoire ont rapporté que chez *A. baumannii*, la distribution des différents variants du promoteurs Pc montrait une prédominance des variant forts (PcS et PcW_{TGN-10}). De plus, des études portant sur la régulation des intégrons chez *A. baummannii* ont montrées un possible rôle de la protéine UmuDAb (régulateur de la réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter spp*.) dans la régulation du gène de l'intégrase par l'intermédiaire de la boîte LexA.

Ainsi, les objectifs de ce travail de thèse étaient :

- d'identifier les niches écologiques des *Acinetobacter spp*. par une approche One-Health ;
- d'étudier la régulation de l'intégrase de l'intégron et des cassettes de gènes chez *A. baumannii*.

Pour répondre à ces différents objectifs, ce travail de thèse à été construit autour de deux axes :

- L'axe épidémiologique dont le but était de construire une collection de souche de *Acinetobacter spp*. selon le concept One-Health avec des souches isolées des trois

Licence CC BY-NC-ND 4.0

« compartiments » c'est-à-dire, de l'homme, des animaux et de l'environnement ainsi que leurs caractérisation.

- L'axe fondamental qui portait sur la régulation des IM1 chez *A. baumannii* par l'étude des promoteurs PintI1 et PcS chez une souche clinique de *A. baumannii* afin d'identifier les potentiels rôles des protéines UmuDAb et DdrR dans cette régulation.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Axe épidémiologique : Etude des niches écologiques des espèces de *Acinetobacter spp*. selon le concept One-Health

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Dans le contexte de la résistance aux ATBs croissante du genre *Acinetobacter*, non seulement chez *A. baumannii*, mais aussi plus récemment et moins étudiée, chez les espèces de *A*. non-*baumannii*, le premier volet de ce travail s'intègre dans le projet ELEANOR qui avait pour objectif d'étudier la dynamique d'évolution et d'adaptation de *A. baumannii* aux environnements hospitaliers, notamment via l'étude de la multirésistance aux antibiotiques de souches isolées via une approche intégrée One-Health (humain, animal, environnement), et du rôle des intégrons dans cette multirésistance. L'isolement et la caractérisation des souches de A*cinetobacter* de diverses origines avait pour but d'identifier les niches écologiques et les réservoirs potentiels des *Acinetobacter spp*. afin d'évaluer leur impact sur la santé humaine.

Dans un premier temps, nous avons constitué une collection d'isolats des divers compartiments (Homme, Animal et Environnement) isolés autour de Limoges et dans la région Nouvelle-Aquitaine, nous permettant de caractériser, comparer et identifier les réservoirs de *Acinetobacter* d'un point de vue One-Health. Nous avons aussi comparé l'évolution sur 11 ans des espèces de *Acinetobacter* en clinique humaine, et notamment la part des espèces du complexe *Acb* et des autres espèces de *Acinetobacter* isolées au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux. Ces deux approches nous ont permis de réaliser une comparaison transversale de nos données de distribution humaines, animales et environnementales. Enfin, nous avons étudié l'épidémiologie et la persistance des *Acinetobacter* sur un continuum allant du patient infecté et son environnement clinique, en passant par les effluents hospitaliers et la STEP jusqu'au rejet des eaux usées dans la rivière.

Nous avons ensuite fait un focus sur une situation particulière : une épidémie à CRA*b* porteurs d'intégron de classe 2 ayant eu lieu dans le service de grands brulés du CHU de Bordeaux.

L'ensemble de ces résultats est présenté ci-après en commençant par une section Matériel et méthodes suivie d'une section Résultats divisée en 2 parties dont 2 études sont rédigées sous la forme d'article.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Matériel et Méthodes

I. Construction d'une collection de souche selon le concept One-Health

I.1. Les souches cliniques

Pour construire la partie « clinique » de la collection de souches nous avons collaboré avec le service de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux et le service de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges. Les souches de *Acinetobacter spp.* isolées au sein des CHUs ont été sélectionnées selon l'espèce, le type de prélèvements et le profil de résistance aux ATBs. Une colonie de chaque souche a été mise en culture dans 5 ml de milieu LB afin d'être conservée à -80°C dans des cryotubes contenant du diméthyl sulfoxyde (DMSO) à 10%.

I.2. Les souches animales

La construction de la partie « animale » de la collection de souche s'est faite en collaboration avec le Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherche de la Dordogne (LDAR24) et les Laboratoires Qualyse de Niort et de Tulle. L'échantillonnage pour l'isolement des souches animales a été fait selon trois cas de figures, nos collaborateurs nous ont transmis (i) les souches de *Acinetobacter sp.* isolées lors de leurs analyses vétérinaires de routine qui avaient été conservées à - 80°C; (ii) des prélèvements de fèces provenant de différentes espèces animales ou (iii) des prélèvements de fond de gorge effectués par écouvillonnage sur des petits animaux (chien et chat) durant les soins vétérinaires.

I.3. Les souches environnementales

La construction de la partie « environnementale » de la collection de souches a été réalisée à partir de prélèvements environnementaux (terre et eau) effectués autour de Limoges ou par nos collaborateurs du LDAR24 (**Figures 25 et 26**).

Pour les prélèvements autour de Limoges, 19 sites d'échantillonnages ont été sélectionnés avec des niveaux de pressions anthropiques variés (**Figure 25**). Les sites ont été échantillonnés à deux reprises. Lors du premier échantillonnage des prélèvements de terre uniquement ont été effectués et lors du deuxième échantillonnage des prélèvements de terre et d'eau ont été effectués en même temps et au même endroit pour chacun des sites.

Les échantillons de terre ont été collectés dans des tubes Eppendorf® de 5 ml à l'aide d'une spatule stérilisée sur place à l'éthanol 70%. Les échantillons d'eau ont été collectés dans des tubes Falcon® de 15 ml. Tous les prélèvements ont été conservés à 4°C jusqu'à leur traitement qui était effectué le jour même.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

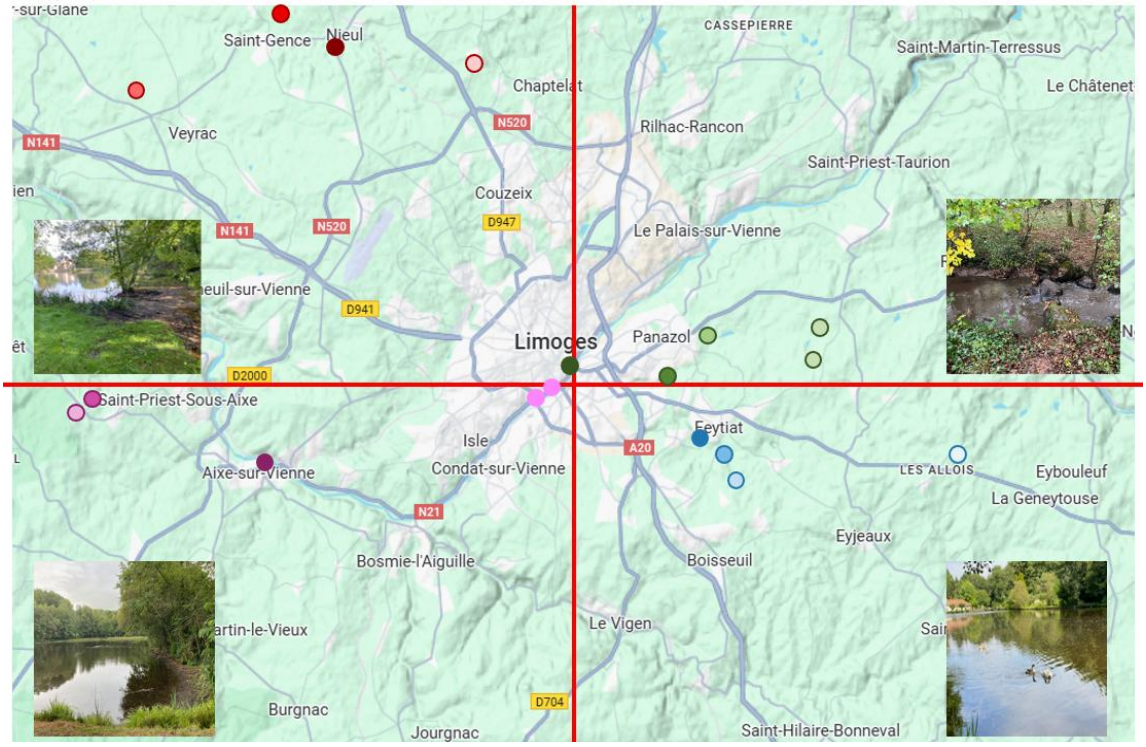


Figure 25 : Localisation des prélèvements environnementaux autour de Limoges

Les points de couleurs correspondent aux sites de prélèvements des échantillons de terre et d'eau avec, le point le plus foncé indiquant le site avec la pression anthropique la plus élevée (Nieul, Aixe-sur-Vienne, Feytiat et Limoges) et le point le plus clair le site avec la pression anthropique considérée comme la plus faible. Les deux points roses montrent les sites de prélèvements sélectionnés pour la rivière Vienne.

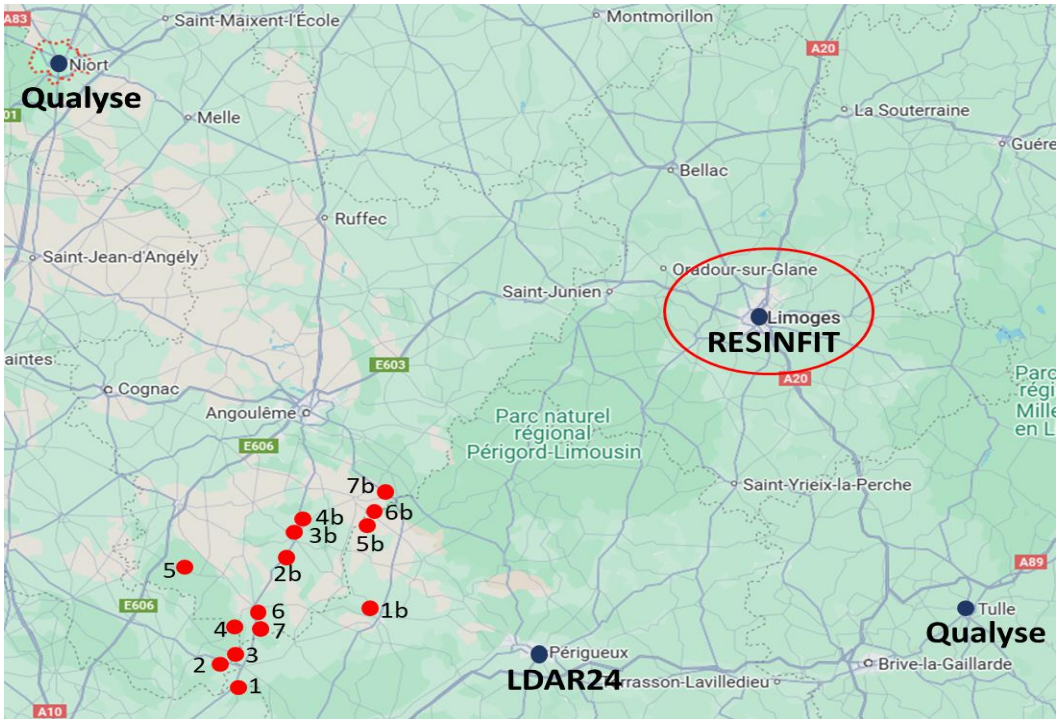


Figure 26 : Localisation des sites d'échantillonnages effectués par le LDAR24

Les points rouges indiquent les sites de prélèvements de terre effectués par nos collaborateurs du LDRA24. Les points bleus indiquent notre laboratoire, RESINFIT, ainsi que les laboratoires collaborateurs : LDAR24 et Qualyse de Tulle et de Niort. Le cercle rouge délimite les sites de prélèvements effectués autour de Limoges.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II. Isolement et caractérisation des souches

II.1. Les prélèvements de fèces et de terre

0,5 g de terre ou de fèces ont été re-suspendu dans 2 ml d'H_2O stérile par vortexage et, après décantation, 100 µL de la suspension ont été étalés, à l'aide de bille en verre, sur milieu CHROMagar™ *Acinetobacter* (milieu chromogène et sélectif spécifique du genre *Acinetobacter* (CHROMagar ™, France)) en triplicat. Les géloses ont été incubées pendant 24h à 37°C pour les prélèvements de fèces et à 32°C pour les prélèvements de terre.

II.2. Les prélèvements d'eaux

10 ml d'eau ont été centrifugés à 3 000 rpm, pendant 15 min à 4°C. Les culots ont été repris dans 1 ml d'H_2O stérile et 100 µL de la suspension ont été étalés, à l'aide de billes en verre, sur milieu CHROMagar™ *Acinetobacter* en triplicat. Les géloses ont été incubées pendant 24h à 32°C.

II.3. Les prélèvements de fond de gorge

Les prélèvements de fond de gorge ont été ensemencés en strie sur boîte CHROMagar™ *Acinetobacter* directement à partir des écouvillons reçus. Les géloses ont été incubées pendant 24h à 37°C.

II.4. Identification et conservation des souches

Sur milieu CHROMagar™ *Acinetobacter* les colonies de *Acinetobacter spp*. ont une couleur rouge (**Figure 27**). Pour chaque colonie rouge présentant un morphotype différent, un test d'oxydase (Thermo Scientific™Remel™ BactiDrop™) a été réalisé, permettant de détecter l'enzyme cytochrome oxydase. Par condition expérimentale, une dizaine de colonies rouges et oxydase négatives ont été ré-isolées sur gélose LB afin d'obtenir des cultures pures et ces dernières ont été identifiées en utilisant le Bruker Biotyper® MALDI-TOF MS (Bruker), une technologie d'identification basée sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight). Cette technologie permet d'obtenir le profil protéique des bactéries et de le comparer à une base de données afin de proposer dix résultats d'identification accompagnés, chacun, d'un score de fiabilité allant de 0.0 à 3.0. Dans notre cas, l'espèce était validée, lorsque le score de fiabilité était compris entre 1.70 et 3.00 et que l'ensemble des profils protéiques concordaient. Les souches dont les scores étaient inférieurs à 1.70 étaient mises en collection sous la dénomination *Acinetobacter spp*., si les résultats de la liste indiquaient une espèce de *Acinetobacter*. Une fois l'identification confirmée, toutes les souches de *Acinetobacter* ont été ont été mises en culture dans 5 ml de milieu LB et conservées à -80°C dans du DMSO 10%. Elles sont listées dans l'**Annexe 1**.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

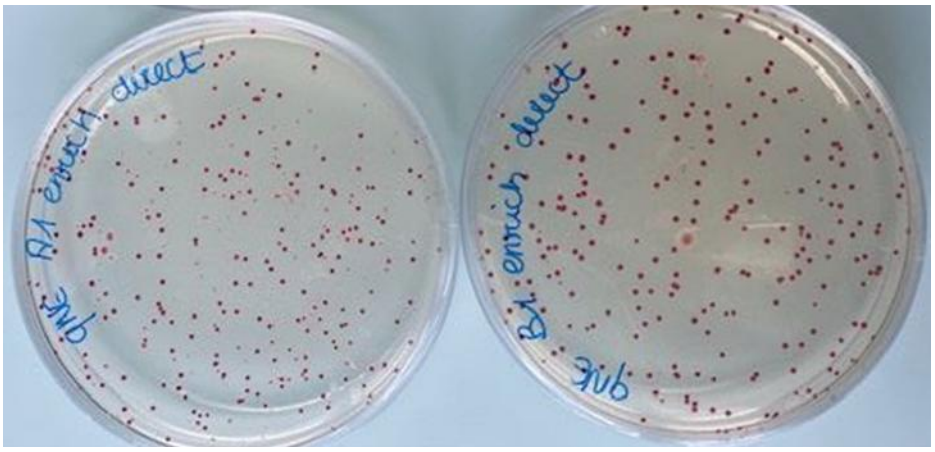


Figure 27 : Colonies isolées sur CHROMagar™ *Acinetobacter* à partir d'un échantillon de terre

Les photos montrent les colonies de *Acinetobacter* isolées à partir d'un échantillon de terre sur milieu gélosé chromogène et sélectif CHROMagar™ *Acinetobacter* sur lequel les colonies des espèces du genre sont rouges après 24h d'incubation à 32°C.

III. Caractérisation des souches de la collection

III.1. Détection de la présence d'intégron par PCR quantitative multiplexe en temps réel

La présence des intégrons de classe 1, 2 et 3 a été déterminée par PCR (Polymerase chain reaction) quantitative multiplex en temps réel (Barraud *et al.*, 2010) pour toutes les souches. Deux à trois colonies bactériennes ont été remises en suspension dans 50 µL d'H_2O pour préparation injectable (H_2Oppi) et incubées 5 minutes (min) à 96°C. Le mélange réactionnel de 10 µL comprenait : 0.2 µL de sonde (10 µM), 0,4 µL d'amorces (10 µM), 5 µL de Mix QuantiFast® Multiplex qPCR Matser Mix 2X (Qiagen) et, soit 2 µL de suspension bactérienne, 2 µL de plasmide TRC99A (100 ng/µL ; **Tableau 2**) pour le contrôle positif ou 2 µL d'H_2Oppi pour le contrôle négatif. Le programme de qPCR en temps réel s'est déroulé dans un thermocycleur Bio-Rad CFX96™ Real-Time System comme suit : 10 min à 95°C, 45 cycles : 30 secondes (s) à 95°C, 1 min à 55°C, 1 min à 72°C. Les données ont été analysées avec l'application Bio-Rad CFX Manager. Les amorces et sondes utilisées sont décrites dans le **Tableau 3**.

III.2. Détermination du profil clonal des souches par ERIC-PCR

Le génotypage des souches de *A. baumannii* et *A. lwoffii* a été réalisé par ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) (Versalovic et al., 1991). Le mélange réactionnel comprenait 25 µL de OneTaq® Quick-load 2X (New England Biolabs), 2 µL d'amorces (ERIC-1, ERIC-2 ou VL1 ; 10 µM), 17 µL d'H_2Oppi et 6 µL de suspension bactérienne (une colonie re-suspendue dans 50 µL d'H_2Oppi). Le programme s'est déroulé dans un thermocycleur Eppendorf™ Mastercycler™ nexus X2 comme suit : 5 min à 96°C, 36

Licence CC BY-NC-ND 4.0

cycles : 30 s à 94°C, 30 s à 39°C ou 32°C (pour ERIC-1/ ERIC-2 ou VL1 respectivement - **Tableau 3** -), 6 min à 68°C puis une élongation finale de 5 min à 68°C.

Les produits PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% dans du TBE 0,5X (Tris-Borate-EDTA) contenant du Midori Green Advance DNA stain® (Nippon Europe Genetics GmbH, Düren, Allemagne) avec une migration à 110 volts (V) pendant 1 heure (h). Le marqueur de taille utilisé était le Quick-Load® Purple 1 kb Plus DNA Ladder (New England Biolabs). Les gels ont été visualisés avec le logiciel Gel Doc™ EZ System (Bio-Rad). L'interprétation des profils clonaux a été faite visuellement en suivant les recommandation de Ying *et al* : deux souches présentant un profil de bande identique était considéré comme un clone ; avec une à trois bandes de différences comme un sous-type du même clone, et plus de trois bandes de différences comme deux clones différents (Ying *et al.*, 2015).

III.3. Détermination du profil de sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des souches a été testée sur un panel de 20 ATBs (**Tableau 4**), dont quatre utilisés exclusivement en médecine vétérinaire (en gras dans le tableau), appartenant à sept familles distinctes et a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton (MH) (bioMérieux) selon les recommandations du CA-SFM 2023 (Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) après incubation en aérobiose pendant 24h à 37°C pour les souches « cliniques » et les souches « animales » et à 32°C pour les souches « environnementales ». L'interprétation et la caractérisation pour chaque ATB a été faite par comparaison entre les diamètres d'inhibition lus et les diamètres critiques établis par le CA-SFM 2023. La sensibilité de certaines souches à la colistine (COL) a aussi été évaluées par micro-dilution en milieu liquide en utilisant du MH ajusté en cation (ThermoFisher Scientific) selon les recommandations du CA-SFM 2023 après incubation en aérobiose pendant 24h à 37°C.

Les souches résistantes à l'imipenème (IPM) étaient considérées comme résistantes aux carbapénèmes (CR pour carbapenem resistant) et les souches résistantes à ≥ trois familles d'ATB (pipéracilline-tazobactam, ceftazidime, céfépime ou imipenème pour les β-lactames) étaient comme multirésistantes aux antibiotiques (MDR pour Multi Drug Resistant). Les souches MDR et CR étaient considérées comme eXtensively Drug Resistant (XDR).

III.4. Détermination de la capacité de transformation

La capacité de transformation a été testée pour toutes les souches de *A. baumannii*. La technique utilisée a été adaptée de (Godeux *et al.*, 2018) et a été réalisée en triplicat biologique et technique pour chaque souche. Tout d'abord, l'ADN génomique (ADNg) d'une souche de *A. baummannii* CM152 résistante à la rifampicine (**Tableau 2**), servant d'ADN donneur, a été extrait en utilisant le kit d'extraction de l'ADN bactérien SaMag™ (Sacace Biotechnologies) en

Licence CC BY-NC-ND 4.0

partant de colonies sur boîte. Les souches à tester étaient mise en culture (une colonie dans 5 ml de LB) à 37°C sous agitation jusqu'à l'obtention d'une densité optique à 600nm (DO_{600}) comprise entre 0,8 et 1. Les cultures étaient ensuite remises en suspension dans une solution de tryptone à 5g/L (EUROMEDEX, France) pour les souches cliniques et environnementales ou de tryptone salt diluant (Bio-Rad) pour les souches animales afin d'obtenir une DO_{600} de 0,1. Puis, 2,5 µL de culture diluée ont été distribués dans quatre tubes de 0.6 ml et 2,5 µL d'ADNg de *A. baumannii* CM152 Rif^R (100 ng/µL) a été ajouté à trois des tubes et 2,5 µL de tryptone à 5g/L dans le dernier (contrôle négatif). Ensuite 2,5 µL du mélange a été déposé à la surface de tubes de transformation contenant de 500 µL de milieu de composé d'agarose D3 à 2 % (EUROMEDEX, France) dissous dans du tryptone à 5g/L pour les souches cliniques et environnementales ou dans du tryptone salt diluant pour les souches animales. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 37°C, puis les bactéries ont été remises en suspension, dans 300 µL de tryptone à 5g/L pour les souches cliniques et environnementales ou de tryptone salt diluant pour les souches animales, en vortexant le tube. Des dilutions en cascade des suspensions bactériennes ont été réalisées jusqu'à 10^{-7} dans un volume final de 100 µL. trois gouttes de 40 µL des dilutions 10^{-3} à 10^{0} de chaque condition ont été déposées sur gélose LB, et trois gouttes de 40 µL des dilutions 10^{-7} à 10^{-4} des souches testées et des dilutions 10^{-3} à 10^{0} pour le contrôle négatif, ont été déposées sur géloses LB supplémentées avec 50 mg/ml de rifampicine (LB + Rif50). Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 12 à 24h.

Après incubation, les unités formants colonies (UFC) ont été comptées pour chaque goutte de la dilution optimale sur LB et sur LB + Rif50 puis la moyenne a été faite afin de pouvoir calculer la fréquence de transformation (FT) en utilisant la formule ci-dessous :

$$FT = \frac{(moyenne\ du\ nombre\ d'UFC\ sur\ milieu\ sélectif * FD) * \frac{1000}{VMS}}{(moyennne\ du\ nombre\ d'UFC\ sur\ milieu\ LB * FD) * \frac{1000}{VLB}}$$

FD : facteur de dilution ; VMS : volume en µL déposé sur milieu sélectif ; VLB : volume en µL déposé sur milieu LB

Pour les souches naturellement résistantes à la rifampicine, les tests ont été réalisés en utilisant, comme ADN donneur, le plasmide pPcS-OriA purifié (100 ng/µL) qui possède un gène de résistance à la kanamycine (**Tableau 2**). Les bactéries transformables ont alors été sélectionnées sur géloses LB + Kan25.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tableau 2 : Souches et plasmides utilisés dans l'axe épidémiologie

Souches et plasmides	Description/ caractéristiques	Références
Acinetobacter baumannii		
A. baumannii CM152 Rif^R	Souche clinique rendue résistante à la rifampicine par passage successif	Cette étude
Plasmides		
pPcS-OriA	Plasmide possédant une origine de réplication permettant sa réplication chez *Acinetobacter* et un gène de résistance à la kanamycine	Cette étude
pTRC99A	Plasmide codant pour les gènes des intégrases de classe 1, 2 et 3	(Stalder *et al.*, 2014)

Tableau 3 : Amorces et sondes utilisées dans l'axe épidémiologie

Amorces et sondes	Séquence (5'-3')	Cibles	Références
Amorces			
intI1-LC1	GCC TTG ATG TTA CCC GAG AG	*intI1*	(Barraud *et al.*, 2010)
intI1-LC5	GAT CGG TCG AAT GCG TGT		
intI2-LC2	TGC TTT TCC CAC CCT TAC C	*intI2*	
intI2-LC3	GAC GGC TAC CCT CTG TTA TCT C		
intI3-LC1	GCC ACC ACT TGT TTG AGG A	*intI3*	
intI3-LC2	GGA TGT CTG TGC CTG CTT G		
ERIC-1	ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C		(Ying *et al.*, 2015)
ERIC-2	AAG TAA GTG ACT GGG GGT GAG CG		
VL1	GAG GGT GGN GGN TCT		(Couvé-Deacon *et al.*, 2019)
Sondes			
intI1-sonde	(6-FAM) ATT CCT GGC CGT GGT TCT GGG TTT T (BHQ1)	*intI1*	(Barraud *et al.*, 2010)
intI2-sonde	(Texas Red) TGG ATA CTC GCA ACC AAG TTA TTT TTA CGC TG (BHQ2)	*intI2*	
intI3-sonde	(Cy5) CGC CAC TCA TTC GCC ACC CA (BHQ3)	*intI3*	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tableau 4 : Liste des ATB testés dans cette étude

Famille	ATB
β-lactamines	Ticarcilline : TIC Ticarcilline-acide clavulanique: TCC Pipéracilline : PRL Pipéracilline-tazobactam : TZP Ceftriaxone : CRO Ceftazidime : CAZ Céfépime : FEP **Ceftiofur : EFT** **Cefquinome : CEQ** Imipénème : IPM
Aminosides	Tobramycine : TOB Gentamycine : GEN Amikacine : AMK
Quinolones	Ciprofloxacine : CIP **Enrofloxacine : ENR**
Cyclines	Tetracycline : TET
Sulfamide - Diaminopyrimidines	Triméthoprime-sulfaméthoxazole : SXT Triméthoprime : TMP
Phénicolés	Chloramphénicol : CHL **Florfénicol : FFC**
Polymyxines	Colistine : COL

IV. Analyse des données épidémiologiques clinique

Nous avons construit une base de données comportant l'ensemble des souches de *Acinetobacter spp*. isolées entre janvier 2014 et décembre 2024 à partir de patients traités au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux. Les données brutes, fournies par les laboratoires de microbiologie médicale des deux CHUs comprenaient : le numéro d'anonymisation des patients ; la date, le type et l'origine du prélèvement ; le sexe et date de naissance du patient; le service demandeur ; l'espèce, ainsi que pour certaines souches du CHU de Limoges, un antibiogramme incluant les résultats pour 15 ATBs (TIC, TCC, PRL, TZP, FEP, CAZ, CRO, IMP, meropénème (MEM), CIP, LVX, AMK, GEN, TOB et SXT) et 14 ATBs pour certaines souches du CHU de Bordeaux (TIC, TCC, IMP, MEM, FEP, AMK, GEN, TOB, CIP, LVX, SXT, céfotaxime (CTX), Piperacilline (PIP) et TZP).

Un premier dédoublonnage a été effectué sur les données brutes afin d'obtenir notre base de données analysable. Les souches étaient considérées comme doublons si, pour une même espèce, elles provenaient du même patient, même service, même type de prélèvement, et si les antibiogrammes ne contenaient pas de différences majeures, c'est-à-dire, entre deux souches et pour un antibiotique donné, une discordance entre sensible (S) ou sensible à forte posologie (D) et résistant (R).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Pour l'analyse des données, nous avons effectué différents types de dédoublonnage à partir de la base de données.

- Le dédoublonnage de type 1, tous types de prélèvements confondus (diversité des espèces par patient) : ont été conservées les souches de toutes les espèces différentes isolées pour un patient ou les souches possédant une différence majeure dans l'antibiogramme, quel que soit le type de prélèvement.
- Le dédoublonnage de type 2, prélèvement « hémoculture » : ont été conservées les souches de toutes les espèces différentes pour 1 patient ou les souches possédant une différence majeure dans l'antibiogramme pour les hémocultures uniquement.
- Le dédoublonnage de type 3, patients infectés : a été conservée, par patient, la première souche isolée quelle que soit l'espèce, et seulement si présence d'un antibiogramme excluant les prélèvements de portage (rectal, buccal ou cutanée) afin de cibler les infections.

Les taux d'incidence, exprimés en nombres de cas par 1000 journées d'hospitalisations, ont été calculés à partir des données des journées d'hospitalisations des CHUs de Limoges et de Bordeaux sur les années 2016-2024, en utilisant la formule suivante :

$$Taux\ d'incidence = \frac{Nombre\ de\ cas\ sur\ la\ période}{Nombre\ total\ de\ journées\ d'hospitalisation\ sur\ la\ période} X1000$$

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Résultats/ Discussion

Les résultats de cet axe épidémiologique sont présentés en deux parties. La première partie consistant à caractériser et comparer des souches de *Acinetobacter spp*. isolées selon une approche One-Health afin, par la suite, d'identifier les réservoirs potentiels des espèces de *Acinetobacter* à partir d'une collection de souches de *Acinetobacter spp*. et des données microbiologiques des CHUs. La deuxième partie étant un focus sur une épidémie à CRA*b,* ayant eu lieu au sein du CHU de Bordeaux, présentée sous forme d'un article scientifique.

Partie 1 : Ecologie et résistance aux antibiotiques du genre *Acinetobacter spp*., selon le concept One-Health

Cette première partie aborde l'identification des réservoirs et la caractérisation des souches de *Acinetobacter spp*. grâce à une collection de souches construite en utilisant une approche One-Health. Cette collection comporte des souches « cliniques » isolées de patients traités au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux, des souches « animales » et des souches « environnementales » isolées de prélèvements de terre et d'eau. Nous avons aussi recueilli les données microbiologiques sur une période de 11 ans des deux CHUs. Ces différentes données nous ont permis d'aborder nos objectifs de différentes façons : (i) par la caractérisation des souches de la collection One-Health, (ii) par l'étude transversale de la diversité des espèces de *Acinetobacter spp*. isolées en 2024, (iii) par l'étude de l'évolution de l'épidémiologie des *Acinetobacter spp*. isolées aux CHUs de Limoges et de Bordeaux sur 11 ans et (iv) par une étude sur la persistance et la dissémination des *Acinetobacter spp*. selon un continuum partant du patient traité au CHU de Limoges jusqu'à la rivière Vienne dont les résultats sont présentés sous forme d'un article.

I. Construction et caractérisation d'une collection de souche de *Acinetobacter spp.* selon le concept One-Health

Le but initial de cette étude était de construire une collection de souche de *Acinetobacter spp.* en s'appuyant sur le concept One-Health, de les caractériser en termes de profil de sensibilité aux ATBs et de présence d'intégron de classe 1, 2 et 3, et enfin de comparer le génome de certaines des souches des 3 compartiments. Pour cela nous avions pour objectif de construire une collection de 300 souches avec 100 souches isolées de patients, 100 souches provenant d'animaux, 100 souches isolées de l'environnement.

Finalement, notre collection compte 420 souches avec 126 souches « cliniques » isolées de patients des CHUs de Limoges et de Bordeaux, 98 souches « animales », 100 isolats provenant de prélèvements de terre et 96 de prélèvements d'eau.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tous les isolats de cette collection ont été identifiés en spectrométrie de masse, puis ont été caractérisés. Tout d'abord nous nous sommes intéressés à leur profil de sensibilité aux ATBs par la réalisation d'un antibiogramme incluant 20 ATBs, dont quatre réservés à la médecine vétérinaire (EFT, CEQ, FFC et ENR) (**Tableau 4**). De plus, nous avons sélectionné la CRO, le TMP et le CHL, pour lesquels il existe une résistance naturelle (à haut ou bas niveau) chez les souches de *Acinetobacter*, et plus particulièrement de *A. baumannii*, clinique. Ces trois ATBs nous serviront de point comparaison dans l'analyse de l'ABR chez des souches de *A. non-baumannii* ainsi que chez les souches « animales » et « environnementales ». L'antibiogramme réalisé pour chacun des isolats a permis de les caractériser en tant que souches sensibles (S), sensible à fortes posologies (D), résistantes (R), CR, MDR ou XDR. Par la suite nous nous sommes intéressés à la présence d'IM de classe 1, 2 et 3.

I.1. Les souches « animales »

Les souches « animales » ont été isolées, entre 2022 et 2024, à partir de différents prélèvements effectués, en grande majorité, par nos collaborateurs du laboratoire Qualyse et du LDAR24, sur diverse espèces animales. En plus de souches isolées, nos collaborateurs nous ont fourni des prélèvements de fèces et de fond de gorge. Pour les prélèvements de fèces nous avons réalisé plusieurs tests d'optimisation pour l'isolement des souches de *Acinetobacter spp*. incluant : l'utilisation de bouillons d'enrichissement, l'étalement sur milieu sélectif des prélèvements purs (avec un écouvillon) ou bien re suspendus dans de l'eau stérile, la durée et la température de conservation des souches ou bien encore la durée et la température optimale d'incubation. Ces différents tests nous ont permis de mettre en évidence plusieurs informations clés sur la conservation et le traitement des échantillons. Tout d'abord, aucune souche bactérienne n'a pu être isolée sur le milieu sélectif après congélation des échantillons de fèces purs. Ensuite, la conservation des prélèvements devait se faire à 4°C sur un temps court (entre deux semaines à un mois) afin de ne pas voir nos échantillons perdre en diversité. Finalement, l'utilisation d'un bouillon d'enrichissement n'augmentait ni le nombre de souches, ni la diversité des espèces isolées. Ainsi nos échantillons étaient traités dès réception (sans congélation ni de conservation à 4°C) par l'ajout de 2 mL d'eau stérile à 1 mg de fèces avant l'étalement de 100 µL du mélange sur milieu sélectif CHROMagar™ *Acinetobacter*.

Ainsi, parmi les 41 prélèvements de fèces analysés, des souches de *Acinetobacter spp*. ont été isolées dans 11 échantillons ce qui correspond à un taux de positivité de 27%. Cependant aucun *Acinetobacter* n'a pu être détecté dans les prélèvements de fond de gorge (n=7). De plus, la majorité des souches de notre collection ont été isolées à partir des fèces ainsi que des prélèvements génitaux (27% et 23% respectivement). Au sein même des prélèvements

Licence CC BY-NC-ND 4.0

génitaux, la plupart des isolats ont été identifiés à partir de prélèvements effectués sur des juments au niveau du col de l'utérus (56%).

I.1.1 Distribution des espèces de *Acinetobacter* en fonction des espèces animales

Au total, 17 espèces différentes de *Acinetobacter* ont été isolées des différentes espèces animales. Parmi les trois espèces animales les plus représentées (équins, caprins et bovins), entre sept et huit espèces différentes de *Acinetobacter spp*, ont été identifiées. La distribution des espèces de *Acinetobacter* en fonction de l'espèce animale d'origine est représentée dans la **Figure 28**.

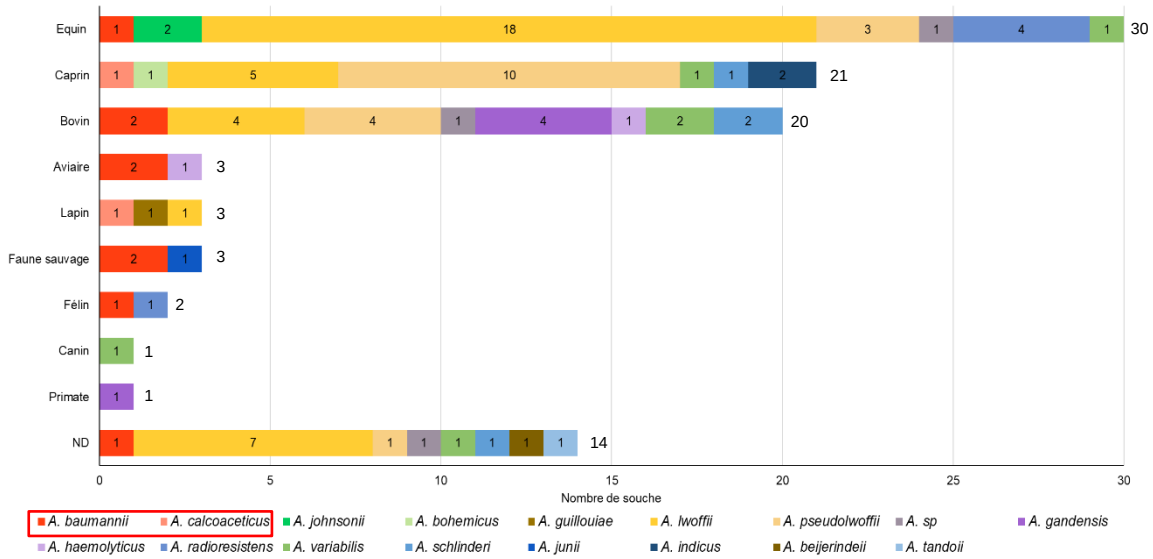


Figure 28 : Distribution des souches de *Acinetobacter* par espèces en fonction de l'espèce animale

Cette figure représente le nombre de souches isolées par espèces bactériennes et par types d'animaux (les caprins regroupent les ovins n=17 et les caprins n=4). L'encadré rouge indique les souches du complexe *Acb*. Dans la barre nommée ND sont regroupées les souches dont l'espèce animale n'était pas connue.

Les souches de *Acinetobacter spp*. ont été principalement isolées à partir d'équins, de bovins et de caprins, animaux qui représentaient respectivement 30,6%, 20,4% et 21,4% de tous les isolats. Les espèces *A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii* étaient prédominantes dans les prélèvements effectués sur les équins et caprins en proportion inverse (i.e. majorité de *A. lwoffii* chez les équins, et de *A. pseudolwoffii* chez les caprins) contribuant à 70% des souches isolées chez ces deux espèces animales. Elles représentaient avec *A. gandensis,* 20% des espèces isolées chez les bovins. Les espèces *A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii* représentaient ainsi près de 36% et 18% de l'ensemble des isolats. Ces résultats sont en corrélation avec une étude récente mettant en avant la forte prévalence de *A. pseudolwoffii* chez les animaux domestiques européens. En effet dans cette étude, 26% des 108 souches de *Acinetobacter* isolées de prélèvements d'animaux domestiques étaient des *A. pseudolwoffii* (Sladecek *et al.*, 2023). *A. lwoffi*, quant à elle, est une espèce déjà connue comme fréquemment retrouvée en portage cutané chez les chiens et d'autres animaux, mais elle est aussi décrite comme un agent

Licence CC BY-NC-ND 4.0

pathogène zoonotique et opportuniste pouvant être responsable d'infections diverses (Chen *et al.*, 2024; Ledesma *et al.*, 2017; Mitchell *et al.*, 2018).

Les espèces du *complexe Acb* arrivaient en 3ème position des souches isolées avec 11,2% des souches dont 9,2% de *A. baumannii*. Cette espèce représentait au moins 50% des souches isolées de félin, de volailles et d'animaux sauvages, mais il est à noter que nous n'avons que peu d'animaux pour ces 3 espèces (n=3). Cependant, nos pourcentages restent inférieurs à ce qui est décrit dans la littérature, avec des études indiquant des taux de positivité pour *A. baumannii* de 22% chez les chiens, 50% chez les chevaux et plus de 15% chez les bovins suivant les échantillons (prélèvement oropharyngé ainsi que uro-génital) (Attili et al., 2024; Klotz et al., 2019).

I.1.2 Sensibilité aux ATB et présence d'intégrons

En ce qui concerne la sensibilité des souches aux 20 ATBs testés (**Figure 29**), 95% des isolats étaient résistants à la CRO et la majorité des souches montraient une résistance au TMP et à l'EFT (>75%) concordant avec une résistance naturelle chez le genre *Acinetobacter*. Une grande partie des isolats (>50%) étaient résistants au CHL et au FFC, deux ATBs de la classe des phénicolés. Ces résultats sont en corrélation avec la littérature où une résistance variable aux phénicolés, reposant sur la production de pompes à efflux et l'inactivation enzymatique, a été décrite (Roberts & Schwarz, 2016; Tan *et al.*, 2024).

Parmi les 98 souches isolées d'animaux, dix étaient considérées comme étant MDR (résistance à minimum trois classes d'ATBs ce qui correspond à près de 10% des souches. Un point intéressant à souligner est que, sur les 18 souches de *A. pseusolwoffii* isolées cinq (28%), provenant d'un caprin et quatre d'ovins différents, étaient MDR pouvant indiquer une forte proportion de souches résistantes au sein de cette espèce. En effet si l'on compare ces données à celles de *A. lwoffii* (n=35), seulement une souche (3%) était MDR.

Au sein de la collection animale, 8 IM1 ont été détectés. Quatre au sein de souches de *A. lwoffii* et un chez une souche de *A. baumannii*, de *A. johnsonii*, de *A. radioresistens* et de *A. beijerindeii*. De plus, sept des souches portant un IM1 ont été isolées de prélèvements effectués sur des équidés. Cependant, aucun des isolats possédant un IM1 ne présentait un profil de multirésistance (**Figure 29**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0



Figure 29 : Profils de sensibilité des souches isolées des animaux

Profil de sensibilité des souches isolées chez les animaux selon l'espèce bactérienne. Les différentes nuances d'orange, dans la deuxième colonne, indiquent le laboratoire à l'origine du prélèvement avec, du plus clair au plus foncé, notre laboratoire, le laboratoire Qualyse et le LDAR. Les souches S, D et R sont représentées respectivement en vert clair, vert foncé et en rouge. Les souches considérées comme étant MDR, selon notre définition pour *Acinetobacter spp,* sont indiquées en violet clair. Enfin la colonne *intI1* indique la présence d'un intégron de classe 1 (en vert).

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline-acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline-tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime-sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florfénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

I.2. Les souches « environnementales »

Au total 196 souches ont été isolées à partir de prélèvements environnementaux effectués, entre 2022 et 2024, lors de plusieurs campagnes, comprenant des échantillonnages de terre et d'eau. La majorité de ces prélèvements ont été effectués aux alentours de Limoges (cf. section matériel et méthodes) représentant 148 isolats avec 100 isolats identifiés de prélèvements d'eau et 48 de terre. De plus, 48 souches ont été isolées des échantillons de terre prélevés en Dordogne.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Concernant les sites de prélèvements situés autour de Limoges, des prélèvements d'eau et de terre ont été effectués au même endroit (**Figure 25**). Le **Tableau 5** met en évidence une forte positivité des sites pour *Acinetobacter spp*. avec des pourcentages de positivité qui oscillent entre 50% et 100%, excepté pour le quart Sud-Est ou le taux de positivité était de 25% seulement pour les prélèvements d'eau. Au niveau des sites de prélèvements de terre effectué en Dordogne par nos collaborateurs du LDAR, 80% des échantillons étaient positifs pour *Acinetobacter spp*. Cependant, aucune corrélation entre le niveau d'anthropisation (défini comme la densité de l'activité humaine à proximité du point de prélèvement) des sites et la présence de *Acinetobacter* n'a pu être établie, sauf pour le quart Sud-Ouest, où le nombre de souche isolées à partir des prélèvements effectués dans la rivière Vienne au niveau de la ville de Limoges, était plus élevé que pour les autres sites.

Tableau 5 : Synthèse du nombre de prélèvements effectués et du taux de positivité de chaque site selon le type de prélèvement

Site	Prélèvements eau		Prélèvements terre	
	Nombre prélèvements	Positif à *Acinetobacter spp*	Nombre prélèvements	Positif à *Acinetobacter spp*
Limoges quart Nord-Est	8	100	8	100
Limoges quart Nord-Ouest	8	75	8	50
Limoges quart Sud-Est	6	25	6	100
Limoges quart Sud-Ouest	6	50	4	50
Dordogne			20	80

I.2.1 Distribution des espèces d'*Acinetobacter* isolées par localisation et selon le type de prélèvements

Au total, 22 espèces différentes de *Acinetobacter* ont été identifiées dans les prélèvements environnementaux (**Figure 30**). La diversité était plus élevée au niveau des échantillons de Limoges (22 espèces différentes) par rapport à ceux prélevés en Dordogne (9 espèces différentes) Cependant il faut prendre en considération : (i) que le nombre de prélèvements et d'isolats étaient plus faible pour ce département mais aussi que (ii) aucun prélèvement d'eau n'avait été réalisé pour ces sites. De plus, la diversité était plus élevée au niveau des prélèvements d'eau (20 espèces différentes identifiées) par rapport aux prélèvements de terre (onze espèces différentes).

Trois espèces étaient majoritairement retrouvées dans les prélèvements de terre de Dordogne *A. johnsonii* (33,3%), *A. bohemicus* (20,8%) suivi de *A. calcoaceticus* (12,5%) (espèce du complexe *Acb*). Ces 3 mêmes espèces représentaient aussi la majorité des souches isolées des prélèvements de Limoges, toutes localisations confondues, et représentaient respectivement 36,5%, 11% et 9,5% des isolats. Les souches de *A. johnsonii* et *A. bouvettii*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

sont les seules à avoir été isolées dans chacun des sites (dans l'eau, la terre ou les deux). *A. calcoaceticus* a été, quant-à-elle, isolées dans 4 des 5 sites, à l'exception du quart Nord-Ouest dans lequel on peut noter un nombre limité d'isolats. (**Figure 30**)

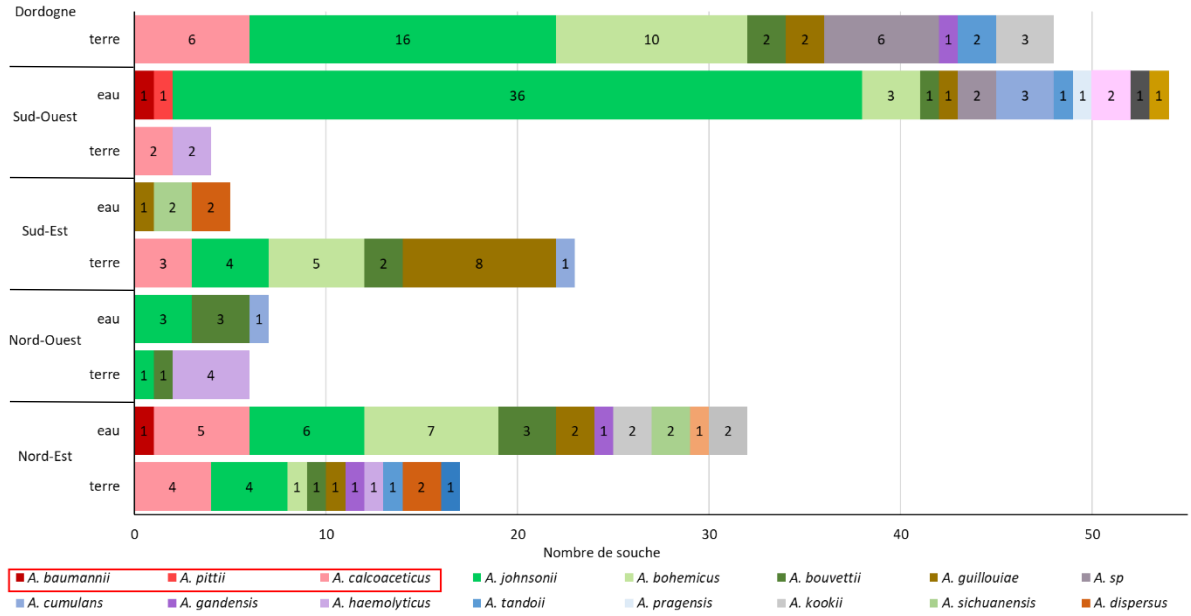


Figure 30 : Distribution des souches de *Acinetobacter spp*. par espèces selon le lieu et le type de prélèvements

La figure représente le nombre de souches isolées par espèces de *Acinetobacter spp* (en abscisse) selon le lieu et le type de prélèvements (ordonnée). Les espèces du complexe *Acb* sont encadrées en rouge.

La prédominance de *A. johnsonnii* dans nos échantillons n'est pas surprenante. En effet cette espèce a été décrite comme étant largement présente dans les environnements naturels (milieux aquatiques et sols) ainsi que dans les environnements hospitaliers (Jia, Liu, et al., 2022). Elle possède une grande capacité d'adaptation grâce à une plasticité génomique importante lui permettant de survivre et de s'adapter à des conditions variées (Jia, Xue, et al., 2022). De plus, tout comme *A. johnsonii*, *A. bohemicus* est régulièrement retrouvée dans les écosystèmes naturels tels que les sols et les eaux de rivière. Les souches de cette espèce sont capables de survivre dans des conditions variées telles que les zones polluées ou anthropisées (Al Atrouni, Joly-Guillou, et al., 2016).

I.2.2 Sensibilité aux ATB et présence d'intégrons

La **Figure 31** indique les profils de sensibilité des souches isolées des prélèvements d'eau et la **Figure 32** les profils des souches isolées des prélèvements de terre. Premièrement, aucun IM n'a été détecté au sein des souches isolées de l'environnement.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Les antibiogrammes effectués sur tous les isolats environnementaux ont mis en évidence une forte proportion de souches MDR (10,2%) au sein de la collection « environnementale » avec 12,5% de souches MDR isolées des prélèvements d'eau et 8% des prélèvements de terre.



Figure 31 : profils de sensibilité des souches isolées dans les prélèvements d'eau

Cette figure présente les profils de sensibilité des souches isolées des prélèvements d'eau selon l'espèce bactérienne. Les souches S, D et R sont représentées respectivement en vert clair, vert foncé et en rouge. Les souches considérées comme étant MDR, selon notre définition pour *Acinetobacter spp,* sont indiquées en violet clair.

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline-acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline-tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime-sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florphénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

Licence CC BY-NC-ND 4.0



Figure 32 : profils de sensibilité des souches isolées dans les prélèvements de terre

Cette figure présente les profils de sensibilité des souches isolées des prélèvements de terre selon l'espèce bactérienne. Les souches S, D et R sont représentées respectivement en vert clair, vert foncé et en rouge. Les souches considérées comme étant MDR, selon notre définition pour *Acinetobacter spp,* sont indiquées en violet clair.

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline-acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline-tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime-sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florphénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

Bien que les profils de sensibilité des souches soient plutôt semblables entre les deux types de prélèvement. Il existe quelques différences intéressantes. Tout d'abord, bien qu'il soit décrit une résistance intrinsèque des souches de *Acinetobacter spp*. à la CRO, près de 36,5% des souches provenant des prélèvements d'eau et 20% des souches isolées à partir des prélèvements de terre étaient S ou D. De plus, les souches isolées de l'eau étaient

Licence CC BY-NC-ND 4.0

globalement plus sensibles au TMP que les souches isolées de la terre avec 17,7% et 2% de souches S respectivement. Enfin, de manière intéressante, les souches de *A. bohemicus* présentaient de profils de sensibilité différents entre les deux compartiments pour quatre ATBs : EFT, CEQ, FFC et CHL. En effet, les isolats identifiés au sein de la terre étaient tous S ou D pour le CEQ, CHL et FFC alors que 50% des souches isolées de l'eau étaient R au CEQ, 70% au FFC et 30% au CHL. Pour le EFT, 100% des souches isolées de l'eau étaient R alors que cela ne représentait que 12,5% des *A. bohemicus* isolées de la terre. Ces résultats démontrent une hétérogénéité des profils de sensibilité des isolats entre les deux compartiments au sein même d'une espèce bactérienne.

I.3. Les souches « cliniques »

Afin de construire la partie « santé humaine » de cette collection, nous avons sélectionné 126 souches isolées de patients traités aux CHUs de Limoges et de Bordeaux en essayant de d'introduire de la diversité au niveau des espèces, des profils de sensibilité aux ATB et des types de prélèvement. Cette sélection a probablement induit un biais dans la distribution des espèces.

I.3.1. Distribution des espèces d'*Acinetobacter* isolées par type de prélèvements

Parmi la totalité des souches isolées en clinique, 69% des isolats appartenaient au complexe *Acb* avec une grande proportion de *A. baumannii* (64,4%) et de *A. pittii* (24,1%), les autres espèces du complexe représentant moins de 5% chacune (**Figure 33**). De plus, les espèces du complexe *Acb* représentaient, à minima, la moitié des isolats pour chacun des types de prélèvements et jusqu'à 100% des espèces isolées des prélèvements rectaux et vaginaux. Après le complexe *Acb*, l'espèce la plus abondante était *A. ursingii* (11% des isolats) isolée dans tous les types de prélèvements sauf des prélèvements rectaux et vaginaux (**Figure 33**). Cette espèce était présente en plus grande proportion que certaines espèces du complexe *Acb*. Néanmoins, du fait du bais de sélection des souches cliniques, il est difficile d'aller plus avant dans l'analyse de cette distribution.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

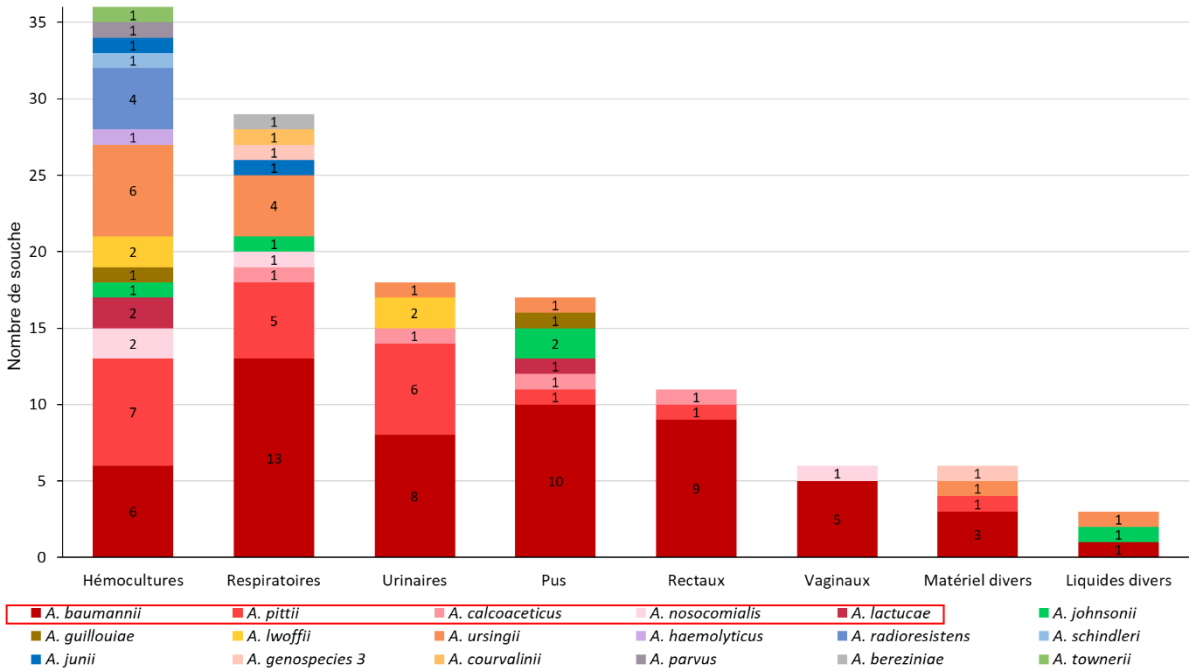


Figure 33 : Distribution des souches de *Acinetobacter* isolées de patients aux CHUs de Limoges et de Bordeaux par espèces selon le type de prélèvements

La figure représente le nombre de souches par espèces de *Acinetobacter* isolées selon le type de prélèvements. Les espèces du complexe *Acb* sont encadrées en rouge.

I.3.2. Sensibilité aux ATB et présence d'intégrons

Pour toutes les souches de la collection « clinique » un antibiogramme, en utilisant les mêmes ATBs que pour les collections « animale » et « environnementale », a été réalisé (**Figure 34**). Si l'on analyse le profil de sensibilité des souches on constate que les souches étaient, en grande majorité, considérées comme sensibles. Seuls des ATBs non-utilisés en médecine humaines montraient des taux de résistance élevés avec 97%, 78% et 81% de souches R à la CRO, au TMP et au CHL respectivement et 87% pour le EFT et le FFC.

Les antibiogrammes ont mis en évidence 14 souches résistantes aux carbapénèmes (CR) dont, onze CRA*b*, une *A. pittii*, une *A. johnsonii* et une *A. ursingii*. Parmi ces souches CR, onze étaient considérées comme étant XDR (dix *A. baumannii* et une *A. pittii*). La sensibilité à la colistine (ATB de dernier recours chez *A. baumannii*) a été testée pour les souches identifiées comme étant XDR, cependant aucune souche résistante à la colistine n'a été détectée.

Au sein des souches cliniques, quatre IM1 et cinq IM2 ont été détectés. Deux IM1 ont été détectés au sein de souches de *A. baumannii* isolées au CHU de Limoges dont une souche caractérisée comme étant XDR et une MDR. Les deux autres ont été identifiés chez, une souche de *A. johnsonii* MDR et une de *A. townerii* caractérisée en tant que S, isolées au CHU de Bordeaux. Les 5 IM2 étaient portés par des souches CRA*b* isolées chez des patients du CHU de Bordeaux. La présence d'IM2 chez des souches cliniques n'ayant pas jamais été

Licence CC BY-NC-ND 4.0

décrites chez des souches isolées en Europe, nous avons fait un focus particulier sur ces souches, travail qui est présenté en détail la partie 2 de ce mémoire.



Figure 34 : profils de sensibilité des souches cliniques

Cette figure présente les profils de sensibilité des souches isolées au CHUs de Limoges (bleu) et de Bordeaux (bleu foncé). Les souches S, D et R sont représentées respectivement en vert clair, vert foncé et en rouge. Les souches considérées comme étant MDR, selon notre définition pour *Acinetobacter spp,* sont indiquées en violet clair et les souches XDR en bleu claire. La présence d'IM1 est indiqué en vert et d'IM2 en rose.

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline-acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline-tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime-sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florphénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.4. Comparaison de la distribution et de la sensibilité des espèces de *Acinetobacter* dans notre collection One Health

Pour comparer la distribution des espèces de *Acinetobacter* en fonction du compartiment One-Health, nous avons pris en compte tous les isolats de chacun des compartiments en subdivisant toutefois le compartiment Environnement en « eau » et « terre ».

Cela représentait au total 420 souches reparties entre 39 espèces différentes de *Acinetobacter.*

I.4.1 Distribution des espèces d'*Acinetobacter* en fonction du compartiment One-Health

En termes de diversité, la distribution des espèces selon les compartiments est assez homogène avec 18, 17 et 22 espèces différentes isolées chez les patients, les animaux et au sein de l'environnement (terre et eau) respectivement. Si l'on s'intéresse aux prélèvements de l'environnement séparément, il semblerait que la diversité soit plus importante dans les eaux (20 espèces différentes isolées des prélèvements d'eau contre 14 identifiées dans la terre) (**Figure 35**).

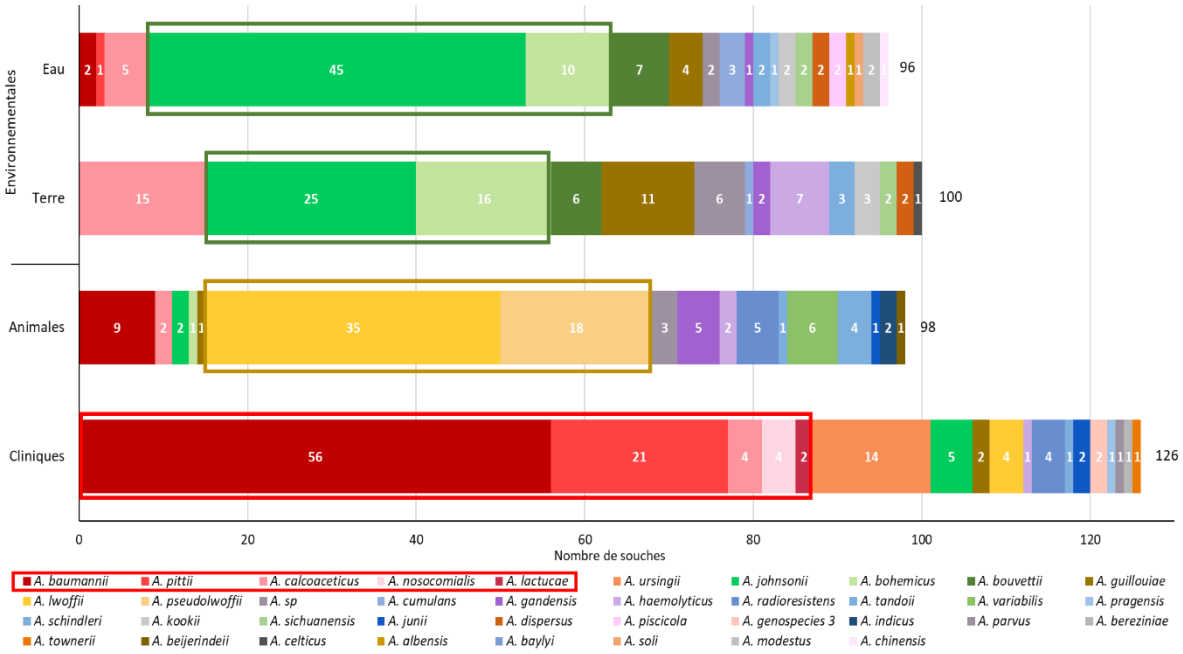


Figure 35 : Distribution des espèces de *Acinetobacter* selon l'origine

Nombre de souches de *Acinetobacter spp.* isolées par espèces (abscisse) et par origine de prélèvements (ordonnée). Le nombre total de souches par compartiment est indiqué au bout de chaque barre d'histogramme. Le nombre d'isolats par espèce est indiqué en blanc dans les cadres de couleurs correspondant aux espèces indiquées en légende. Les espèces du complexe *Acb* sont encadrées en rouge dans la légende et sur le graphe foncé pour les souches cliniques. Les deux espèces les plus prévalentes des autres compartiments sont encadrées en moutarde et en vert pour les souches animales et environnementales (terre et eau) respectivement.

Cette figure met en évidence (i) une prédominance, dans chaque compartiment, d'une à deux espèces et (ii) que peu d'espèces se retrouvent dans plusieurs compartiments.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Sans surprise, les espèces du complexe *Acb* ont été très majoritairement isolées au sein de patients où elles représentaient près de 72% des souches. A contrario les espèces du complexe ne représentaient qu'entre 6,6% et 12,4% des isolats dans les autres compartiments. Bien que le compartiment eau possédait la plus faible proportion de souches appartenant au complexe *Acb* (6,6%), trois des six espèces le composant y ont été identifiées soit la plus grande diversité, mise à part le compartiment clinique. Le compartiment terre possédait la plus faible diversité des espèces du complexe. En effet, seul *A. calcoaceticus* a pu être identifié des prélèvements terre représentant 15% des isolats, soit la troisième espèce la plus retrouvée.

Ceci concorde avec ce qui est décrit des espèces de ce complexe, *A. calcoaceticus* étant principalement retrouvée dans l'environnement, même si elle peut être responsable d'infections associées aux soins (Al Atrouni, Hamze, et al., 2016; Tien et al., 2012), les autres espèces étant considérées comme des pathogènes soit émergents (*A. pittii* et *A. nosocomialis*), soit opportunistes déjà bien établis (*A. baumannii*).

De plus, alors que *A. ursingii* représentait l'espèce la plus abondante en clinique après les souches du complexe *Acb*, comme mentionné plus haut, cette espèce n'a été retrouvée dans aucun des trois autres compartiments, suggérant une préférence de niche pour cette espèce. *A. ursingii* reste encore peu étudiée, bien que considérée comme un pathogène émergent en clinique humaine depuis près de 20 ans pouvant être impliquée dans des infections urinaires ou encore des bactériémies (Dortet *et al.*, 2006; Nemec *et al.*, 2001).

De même, la majorité des souches isolées chez les animaux appartenaient aux espèces, *A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii* (54,1% des souches animales), retrouvées quasi exclusivement dans ce compartiment. Seules quatre souches de *A. lwoffii* ont été isolées de prélèvements cliniques représentant 3% des isolats (**Figure 35**).

Enfin, le compartiment Environnement est, quand-a lui, caractérisé par la prédominance des espèces *A. johnsonii* et *A. bohemicus*, que ce soit dans les échantillons d'eau ou de terre (au total 35,7% et 13% des isolats respectivement avec *A. johnsonii* représentant près de la moitié des souches isolées des prélèvements d'eau et ¼ de celles isolées des prélèvements de terre). Ces deux souches ont été isolées en très faible proportion dans les deux autres compartiments avec *A. johnsonii* représentant 3,1% des isolats et *A. bohemicus* moins de 1% (**Figure 35**). L'analyse globale indique que *A. guillouiae* et *A. bouvettii* étaient 2 autres espèces préférentiellement isolées dans l'environnement

Globalement parmi les 39 espèces différentes présentent au sein de la collection, seules cinq ont été identifiées dans tous les compartiments avec des proportions très variables comme indiqué ci-dessus : *A. baumannii, A. calcoaceticus, A. johnsonii, A. haemolyticus* et *A. guillouiae*.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.4.2 Sensibilité aux ATB et présence d'intégrons

La comparaison des profils de sensibilité des souches par compartiment et par ATB fait ressortir plusieurs résultats intéressants. Globalement, dans notre étude, les souches isolées des différents compartiments étaient majoritairement sensibles aux ATBs testés. Les fortes résistances observées, tout compartiment confondu, correspondaient aux résistances décrites chez *Acinetobacter* tel que la résistance intrinsèque à la CRO et la résistance à haut niveau au TMP et au CHL (ATBs utilisés en médecine humaine) ainsi qu'au EFT et au FFC (ATBs vétérinaires) (**Figure 36**).



Figure 36 : Profil de sensibilité des souches

Pourcentage de souches S (vert clair), D (vert foncé) ou R (rouge) par antibiotique pour chaque compartiment Clinique, Animal, Environnement.

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline - acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline -tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime - sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florphénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

De façon intéressante le taux de résistance au TMP des souches environnementales était supérieur à celui des souches isolées au sein des autres compartiments avec 90% d'isolats R contre 76% chez les souches « animales » et 78% chez les souches « cliniques ». A l'inverse, les souches environnementales présentaient un pourcentage d'isolats S et D élevé pour la CRO (près de 30%). Ce pourcentage de sensibilité élevé pour la CRO, pour lequel est décrit une résistance intrinsèque chez les souches de *Acinetobacter*, remet en question la définition de résistance naturelle selon le compartiment d'isolement. De plus, même si la notion de résistance courante des souches à la TIC ou la TCC découle des analyses effectuées sur les souches cliniques de A*. baumannii* (Mellouli et al., 2021) il est intéressant de remarquer que,

Licence CC BY-NC-ND 4.0

bien que les souches isolées d'animaux présentaient un taux de résistance similaire aux souches cliniques à ces deux ATBs (autour de 10%), le pourcentage de souches isolées de l'environnement résistant à ces ATBs étaient 2,2 et 2,5 fois plus élevé. Enfin, la proportion de souches « animales » résistantes au SXT était supérieur à celle des souches isolées en clinique ainsi que dans l'environnement représentant respectivement 21%, 15% et 6% des isolats.

Concernant les ATBs utilisés en médecine vétérinaire de notre panel (EFT, CEQ, FFC et ENR), nous avons constaté, premièrement, une forte proportion de souches S à l'ENR au sein des trois compartiments, variant entre 86% chez les souches « cliniques » à 96% chez les souches « animales ». Deuxièmement, il existe des niveaux de résistance variable pour les trois autres ATBs. Le taux de résistance pour l'EFT (une céphalosporine de 3ème génération ou C3G) était de plus de 85% dans les trois compartiments ce qui concorde avec ce qui est connu de la résistance aux C3G chez *Acinetobacter spp*. Le CEQ (une C4G utilisée en seconde intention) montrait des taux de résistance plus faible mais pouvant atteindre jusqu'à 51% chez les isolats de l'environnement. Enfin, pour le FFC (de la même famille que le CHL), les souches isolées des animaux montraient un taux de sensibilité supérieur aux souches isolées dans les autres compartiments (44% contre 13% et 24%).

L'analyse des profils de sensibilité pour l'IPM (carbapénème) indique que les souches cliniques montraient un pourcentage de R plus élevé (11%) que les souches animales et environnementales (0 et 1%), cependant notre collection présentait un biais de sélection puisque les souches cliniques du CHU de Bordeaux ont été sélectionnées selon leur profil de sensibilité en se focalisant sur les souches résistantes à l'imipenème. Toutefois, bien que considéré comme une préoccupation en médecine humaine et vétérinaire avec des pourcentages d'isolats résistants pouvant atteindre plus de 90% (Alavi-Moghadam *et al.*, 2014; Krir *et al.*, 2019), l'isolement de souches résistantes à l'IPM, dans notre étude, restait sporadique. Cependant il faut noter que la plupart des études s'intéressent essentiellement à *A. baumannii* et aux autres espèces du complexe *Acb*, or ces espèces ne représentent que 9,1% et 19% des isolats dans les compartiments « Animal » et « Environnement » de notre étude ce qui pourrait expliquer le faible taux de résistance à l'IPM dans ces compartiments.

Enfin, pour résumé, un total de douze IM1 (2,6%) et cinq IM2 (1,2%) ont été identifiés au sein des souches de notre collection. De plus, 9,2% des souches de la collection étaient MDR et 2,6% XDR. Les souches MDR ont été identifiés dans chacun des compartiments alors que les souches XDR n'ont été retrouvées que dans le compartiment « clinique » et étaient, dans 63% des cas, associée à la présence d'un IM.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I.5. Focus sur les souches de *A. baumannii*

Finalement nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux souches de *A. baumannii* isolées dans chacun des compartiments. Au total 66 souches ont été isolées dont 31 au CHU de Limoges, 19 au CHU de Bordeaux, 9 chez les animaux et 2 dans l'environnement. En plus des caractérisations réalisées pour toutes les souches de notre collection (profil de sensibilité aux ATBs et la présence d'intégron), nous avons estimé la clonalité des souches de *A. baumannii* des divers compartiments par ERIC-PCR, ainsi que leur capacité de transformation naturelle. L'ensemble de ces caractérisations sont regroupées dans la **Figure 37**.

I.5.1. Clonalité

L'analyse du profil clonal des souches par ERIC-PCR a montrée que la majorité des souches présentaient un profil unique. Néanmoins, nous avons pu mettre en évidence des clones au sein de notre collection dont quatre clones ont été identifiés au CHU de Limoges, avec 2 isolats identifiés pour les clones 1, 3 et 4. De manière intéressante, le clone 2 comprenait aussi deux souches (23 et 120), une isolée au CHU de Limoges et l'autre au CHU de Bordeaux à partir de prélèvements respiratoires. Ces deux souches possédaient deux différences majeures au niveau de l'antibiogramme avec la souche 23 considérée comme MDR et la souche 120 comme XDR. Deux sous-types du même clone (clone 6) ont été identifiés au CHU de Bordeaux, et enfin un clone avec 2 souches isolées chez les animaux, dont une était MDR (**Figure 37**).

I.5.2. Capacité de transformation naturelle

60 des 66 souches de *A. baumannii* ont pu être testées pour leur capacité de transformation naturelle (**Figure 37**). En effet, certaines souches présentaient une résistance à la rifampicine et à la kanamycine, utilisées dans notre protocole pour estimer la capacité de transformation des souches, et n'ont donc pas pu être testées. Dans nos conditions expérimentales, 63,3% des souches testées étaient naturellement transformables (64% des souches cliniques, 55% des souches « animales » et 50% des souches « environnementales ») avec des fréquences de transformation (FT) allant de 10^{-3} à 10^{-8}. Les FT des souches isolées au CHU de Bordeaux (comprises entre 10^{-6} et 10^{-8}) étaient plus faible que celles des souches isolées au CHU de Limoges (comprises entre 10^{-5} et 10^{-3}). De plus la majorité des souches animales et environnementales avaient des FT>10^{-5}.

Cependant, du au nombre limité de souches de *A. baumannii* isolées d'animaux (n=9) ou de l'environnement (n=2), ne nous permet pas de conclure réellement sur les capacités de transformation naturelle des souches par compartiment.

Les résultats de capacité de transformation naturelle des souches cliniques de *A. baumannii* de notre collection montrent un pourcentage de souches transformables similaire à celui d'une

Licence CC BY-NC-ND 4.0

autre étude effectuée sur 496 souches de *A. baumnanii* (cliniques et environnementales) (Mazzamurro et al., 2024).

Une étude effectuée sur neuf souches de *A. baumannii* isolées d'animaux sauvages a mis en évidence un taux de transformabilité de 55% (n=5) (Godeux *et al.*, 2018), résultats concordant avec notre étude.

Néanmoins, il faut prendre en compte que les techniques utilisées pour tester la capacité de transformation naturelle des souches étaient différentes entre chaque étude.

I.5.3. Profil de sensibilité

Les profils de sensibilité des souches (**Figure 37**) indiquent que les souches isolées de patients traités au CHU de Limoges présentaient les mêmes profils de sensibilité que les souches « animales » et « environnementales », avec un faible taux de souches MDR ou XDR (8,3% pour les souches cliniques de Limoges et 11% pour les souches animales). Les souches isolées au CHU de Bordeaux montraient quant à elles, des profils plus hétérogènes avec une forte proportion de souches MDR et XDR (68%). Mais comme déjà mentionné plus haut, nous avions un fort biais de sélection de souches résistantes pour le CHU de Bordeaux.

I.5.4. Présence d'intégron

Parmi les souches de *A. baumannii*, deux IM1 ont été détectés au sein de souches MDR isolées au CHU de Limoges et un au sein d'une souche isolée « animales ». De plus cinq IM2 ont été identifiées au sein de souches isolées au CHU de Bordeaux qui étaient XDR (**Figure 37**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

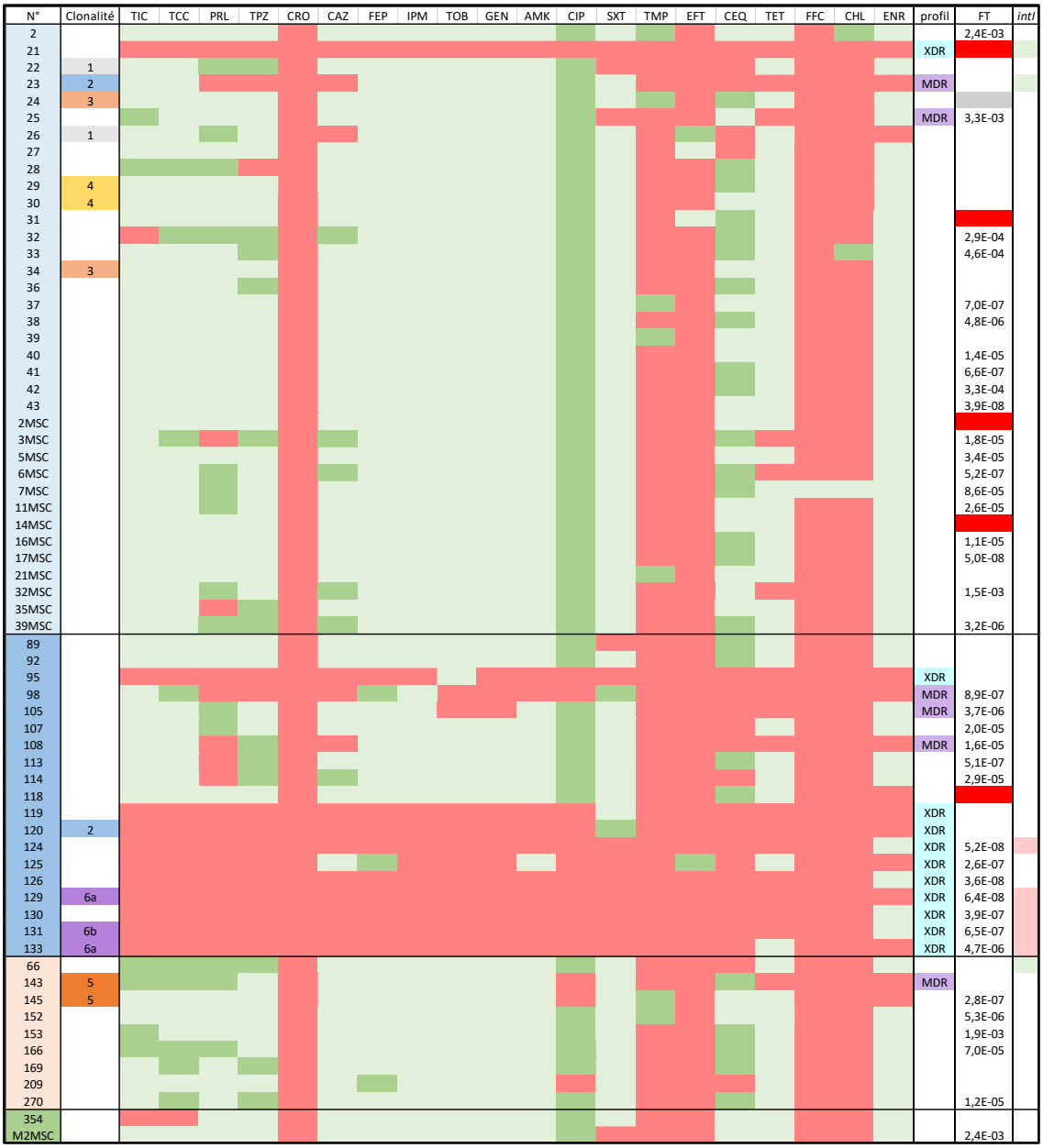


Figure 37 : Caractérisation des souches de *A. baumannii*

La première colonne correspond au numéro des souches et la couleur indique leur origine : CHU de Limoges (bleu clair), CHU de Bordeaux (bleu foncé), souches « animales » (orange) et « environnementales » (vert). La 2nde colonne indique la clonalité des souches : les souches d'un même clone sont indiquées par une couleur et un numéro, a et b indiquant des sous-types du même clone. Les souches possédant un profil unique sont indiquées par une case blanche. Les colonnes suivantes donnent le profil de sensibilité des souches par antibiotiques : S (vert clair), D (vert foncé) ou R (rouge clair). La caractérisation des souches en termes de MDR/XDR est indiquée dans la colonne suivante. La colonne FT indique la fréquence de transformation naturelle des souches avec la valeur de FT estimée pour les souches transformables ; les cases vides indiquent des souches non-transformables, en gris la souche pour laquelle la FT n'a pas pu être calculée et en rouge les souches résistantes à la Rif50 et à la Kan25. Finalement la dernière colonne indique la présence d'IM1 (vert clair) ou d'IM2 (rose).

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline - acide clavulanique ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline -tazobactam ; CRO, ceftriaxone ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; IPM, imipénème ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; AMI, amikacine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime - sulfamétoxazole ; TMP, triméthoprime ; EFT, ceftiofur ; CEQ, cefquinome ; TET, tétracycline ; FFC, florfénicol ; CHL, chloramphénicol ; ENR, enrofloxacine.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II. Evolution de l'épidémiologie de *Acinetobacter spp*. dans la région Nouvelle-Aquitaine entre 2014 et 2024 : étude des CHUs de Limoges et de Bordeaux

Comme mentionné précédemment, nous avons introduit un biais lors de la construction de la partie « clinique » de notre collection de souches en sélectionnant les souches pour avoir une diversité d'espèces et de profils de résistance. Pour ce compartiment, notre collection montrait une forte proportion de souches du complexe *Acb* mais aussi une proportion non négligeable de *A. ursingii*, un pathogène émergent. Afin de vérifier si le biais introduit était important, et aussi si la proportion de souches de *Acinetobacter* non-complexe isolées en clinique pouvait varier, nous avons donc décidé d'analyser l'évolution de l'épidémiologie des souches cliniques de *Acinetobacter spp.* isolées en routine au sein des laboratoires de bactériologie des CHUs de Limoges et de Bordeaux, deux des CHUs de la région Nouvelle-Aquitaine, entre le 1er janvier 2014 et le 31 décembre 2024. Le CHU de Bordeaux est un groupement composé de trois sites géographiques, les groupes hospitaliers Pellegrin, Sud et Saint-André. Il compte 2 640 lits répartis-en 21 pôles d'activités. Le CHU de Limoges est composé de deux sites géographiques, le site Marcland et l'hôpital gériatrique de Chastaingt, et compte 1 944 lits répartis en huit pôles d'activité.

Pour cette étude, les données provenaient d'extractions effectuées à partir des logiciels de bactériologie des laboratoires d'analyses médicales des deux CHUs pour l'ensemble des souches de *Acinetobacter spp*. isolées par années au sein des deux CHUs. Ces données nous ont permis d'étudier plusieurs facteurs, tels que l'évolution de la diversité des espèces, du nombre de patients infectés ou encore de la distribution des espèces selon le type de prélèvements sur une période de onze ans.

II.1. Comparaison du taux d'incidence des souches de *Acinetobacter* isolées entre 2014 et 2024 dans deux CHU de Nouvelle-Aquitaine : CHU de Limoges et CHU de Bordeaux

Nous avons d'abord comparé le nombre de souches de *Acinetobacter spp.* isolées par année au sein des deux CHUs (**Figure 38**).

Globalement le nombre de souches isolées au CHU de Bordeaux était significativement plus élevé qu'au CHU de Limoges (794 et 3 249 respectivement sur les onze ans). Ces chiffres s'expliquent par la différence de taille entre les deux CHUs. En effet le CHU de Bordeaux est le plus grand établissement hospitalier de la région Nouvelle-Aquitaine et a enregistré, en 2024, plus de 867 000 journées d'hospitalisations (JH). Cela est bien supérieur au CHU de Limoges qui, bien qu'acteur essentiel en Limousin, reste un établissement plus modeste avec environ 601 000 JH en 2024. Ainsi, le nombre de souches isolées au CHU de Limoges est resté relativement stable jusqu'en 2023 avec une moyenne de 62,6 souches isolées par année. En 2024 le nombre de souches isolées a augmenté de manière significative pour atteindre 168 isolats (soit 2,6 fois plus). Au CHU de Bordeaux le nombre de souches isolées

Licence CC BY-NC-ND 4.0

par année était plus variable oscillant entre 218 et 409 souches en 2020 et 2023 respectivement. Cette valeur élevée en 2023 s'explique par une épidémie d'infections à CRA*b* ayant eu lieu au sein du service de grands brûlés du CHU.

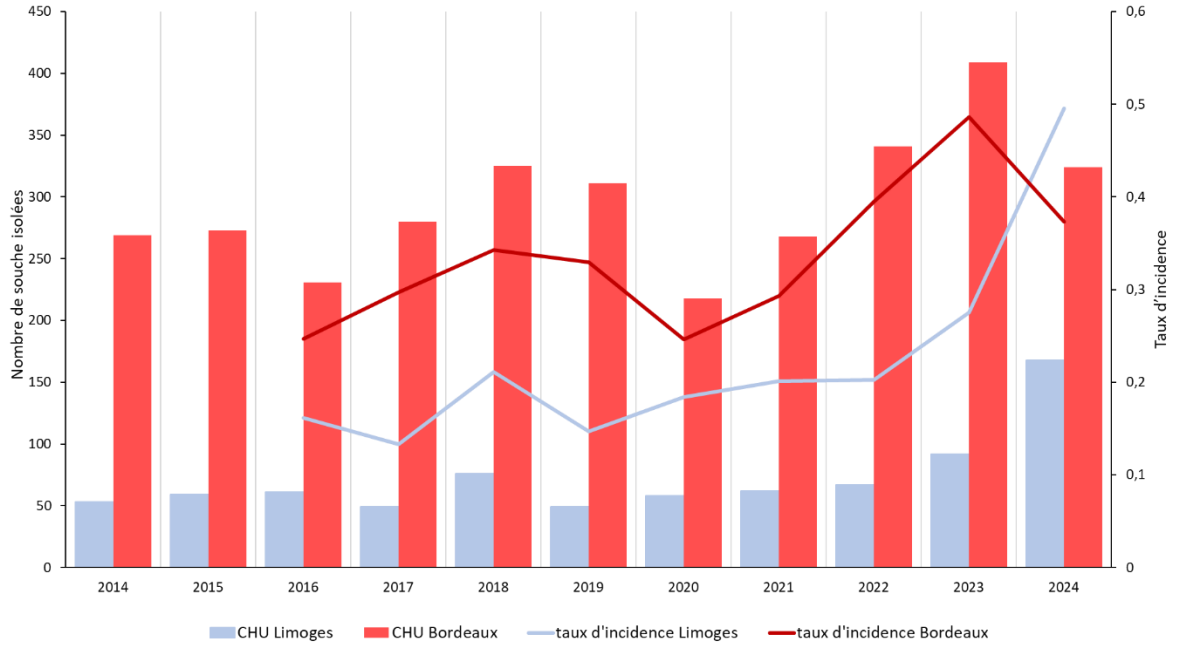


Figure 38 : Evolution dans le temps de *Acinetobacter spp*. isolées au CHU de Limoges (bleu-gris) et au CHU de Bordeaux (bordeaux) entre 2014 et 2024.

Cette figure met en comparaison le nombre de souches de *Acinetobacter* isolées dans chacun des CHUs par années sur la période 2014 à 2024, exprimé en valeur absolue et en taux d'incidence (nombre d'isolat/1000 journées d'hospitalisations).

Lorsque l'on exprime ces chiffres en taux d'incidence (nombre de nouveaux cas sur une période, rapportés à l'activité en JH) sur la période 2016-2024 (les activités en JH n'étaient pas disponibles pour la période 2014-2015), on observe une diminution du taux d'incidence des souches isolées en 2020 au CHU de Bordeaux (passant de de 0,33 à 0,25) pouvant être expliquée par la pandémie de SARS-CoV2 et à la mise en place des différentes mesures barrière, des confinements dans la population et de la diminution de l'activité du CHU. Par la suite le taux d'incidence augmente jusqu'à atteindre, en 2023, 0,49 isolats/1000 JH. En comparaison, le taux d'incidence de *Acinetobacter* isolés à Limoges est resté stable jusqu'en 2022 avant de fortement augmenter passant alors de 0,2 à 0,5 isolats/1000 JH en 2024 soit une augmentation de 250% en l'espace de deux ans (**Figure 38**).

Si l'on considère la période sur son ensemble, l'évolution des taux d'incidence pour chaque CHUs entre 2016 et 2024, montre que sur cette période de neuf ans le taux d'incidence du CHU de Bordeaux ne montre pas de grande variation (0,25 à 0,37 isolats/1000 JH) alors qu'il augmente de 0,16 à 0,5 isolats/1000 JH au CHU de Limoges (**Figure 38**). D'autre part, l'incidence est plus élevée au CHU de Bordeaux qu'au CHU de Limoges, jusqu'en 2024 où la

Licence CC BY-NC-ND 4.0

tendance s'inverse et l'incidence au CHU de Limoges dépasse pour la première fois celle de Bordeaux.

II.2. Evolution de la diversité des espèces du genre *Acinetobacter*

Afin d'analyser l'évolution de la diversité des espèces de *Acinetobacter* indépendamment du type de prélèvement, sur la période 2014-2024 pour les deux CHUs, nous avons procédé au dédoublonnage de type 1 des données (tous types de prélèvements = chaque isolat chez un patient présentant un nom d'espèce différent ou une différence majeure dans l'antibiogramme, sans tenir compte du type de prélèvement). Nous avons ainsi pu déterminer le nombre d'isolats par espèces et par année en définissant trois périodes : 2014-2017, 2018-2021 et 2022-2024 (**Figure 39**).

Le complexe *Acb* (qui pour rappel comporte les espèces *A. baumannii, A. pitii, A. calcoaceticus, A. nosocomialis*, *A. lactucae* et *A. seifertii*) est analysé comme un ensemble et représente la majorité des espèces isolées, que ce soit au CHU de Limoges ou de Bordeaux, représentant respectivement 70% et 79% des isolats sur la période 2014-2017 (**Figure 39).** Toutefois cette proportion décroit dans le temps plus fortement à Limoges qu'à Bordeaux : sur la période 2018-2021, le complexe *Acb* représente à peine plus de la moitié (54%) des souches isolées au CHU de Limoges, mais reste majoritaire au CHU de Bordeaux (69%).

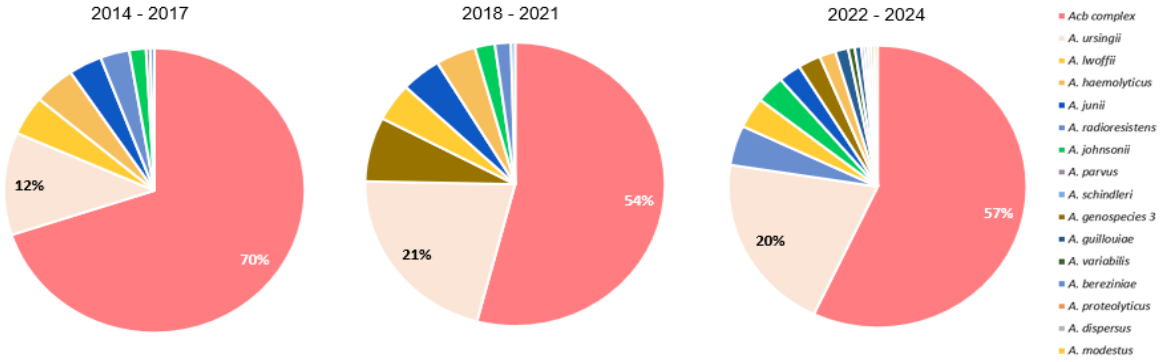
Au CHU de Limoges (**Figure 39.A**), cette diminution va de pair avec la forte augmentation de la proportion d'isolats de *A. ursingii* qui passe de 12 à 21% entre les deux périodes pour se stabiliser à 20 % sur la période 2021-2024, indiquant une augmentation de la prévalence de cette espèce dans les infections humaines. Sur la durée de l'étude, la proportion des autres espèces de *Acinetobacter* varie peu, entre 18 et 23%. Par contre la diversité s'accroit, passant de sept à quatorze espèces différentes entre la 1ère et la 3ème période analysée.

En ce qui concerne le CHU de Bordeaux (**Figure 39.B**), la part de *A. ursingii* est plus faible qu'au CHU de Limoges, et ne montre qu'une très faible augmentation sur les onze ans de l'étude passant de 6% à 9%. La diminution de la part du complexe *Acb* se fait ici plutôt au profit des autres espèces de *Acinetobacter* isolées chez les patients, avec une proportion des espèces non-complexe/ non-*ursingii* représentant respectivement 14%, 24% et 20% de tous les isolats sur les périodes 2014-2017, 2018-2021 et 2021-2024. La diversité, en tant que telle, varie peu avec 12 espèces différentes sur la 1ère période contre 15 sur la 3ème.

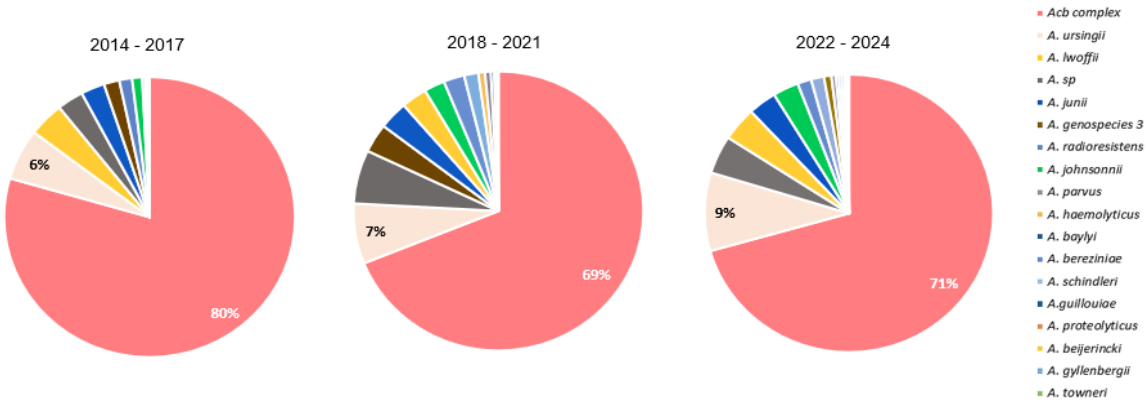
Si l'on regarde dans la globalité, en fusionnant les données des deux CHUs, sur la période de 11 ans on observe une diminution de 8 % des souches du complexe *Acb* qui se répartit en l'augmentation pour 2/3 de la part de *A. ursingii* (7 % à 12%) et pour 1/3 de la part des autres espèces non *baumannii* (15 à 18%) avec une augmentation de la diversité de ces espèces (de 12 à 19 espèces) (**Figure 39.C**)

Licence CC BY-NC-ND 4.0

(A) Diversité des espèces de *Acinetobacter* isolées au CHU de Limoges entre 2014 et 2024



(B) Diversité des espèces de *Acinetobacter* isolées au CHU de Bordeaux entre 2014 et 2024



(C) Diversité des espèces de *Acinetobacter* isolées au CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024

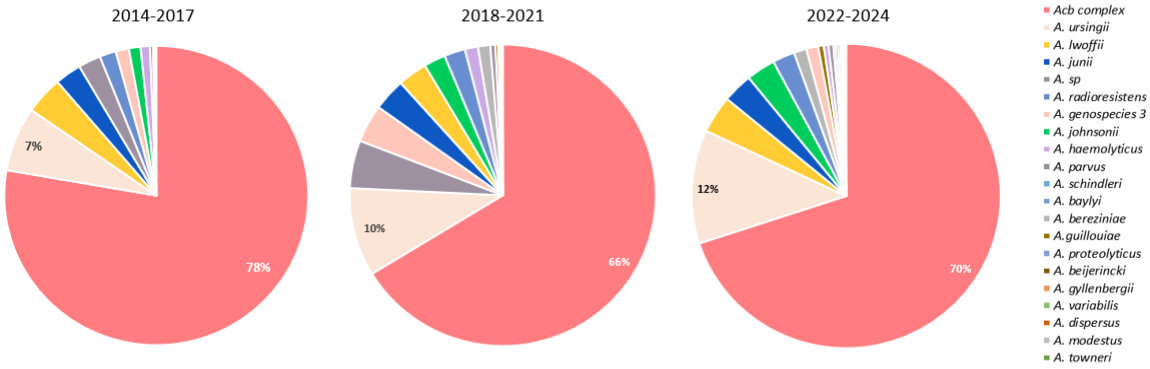


Figure 39 : Evolution de la diversité des espèces isolées au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024

Diversité des espèces de *Acinetobacter* isolées (A) au CHU de Limoges, (B) au CHU de Bordeaux et (C) pour l'ensemble des deux CHUs, entre 2014 et 2024. Les espèces du complexe *Acb* sont regroupées sous l'acronyme *Acb complex*. Chaque espèce est représentée par une couleur indiquée en légende. Les pourcentages du nombre d'espèces du complexe *Acb* (saumon) et de *A. ursingii* (beige) parmi le total des isolats de *Acinetobacter* sont indiqués sur les graphiques. Le nombre total d'isolats (N) est indiqué par période sous chaque graphique.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.3. Distribution des espèces par types de prélèvements

Afin d'explorer les tendances de localisation des isolements cliniques de *Acinetobacter spp*., nous avons étudié la distribution des espèces de *Acinetobacter* suivant le type de prélèvements et calculé le taux d'incidence par type de prélèvement et par CHU. Les différents types de prélèvements ont été regroupés en 9 catégories : prélèvements respiratoires, hémocultures, prélèvements urinaires, pus profond, matériel divers, pus superficiel, prélèvements génitaux, liquides divers et prélèvements O.R.L. Les prélèvements de portage (rectal, cutané et pharyngé) ont été exclus de cette partie de l'étude (**Figure 40**).

Pour le CHU de Bordeaux cela représente 2 059 souches et 23 espèces, et 596 souches et 17 espèces pour le CHU de Limoges.

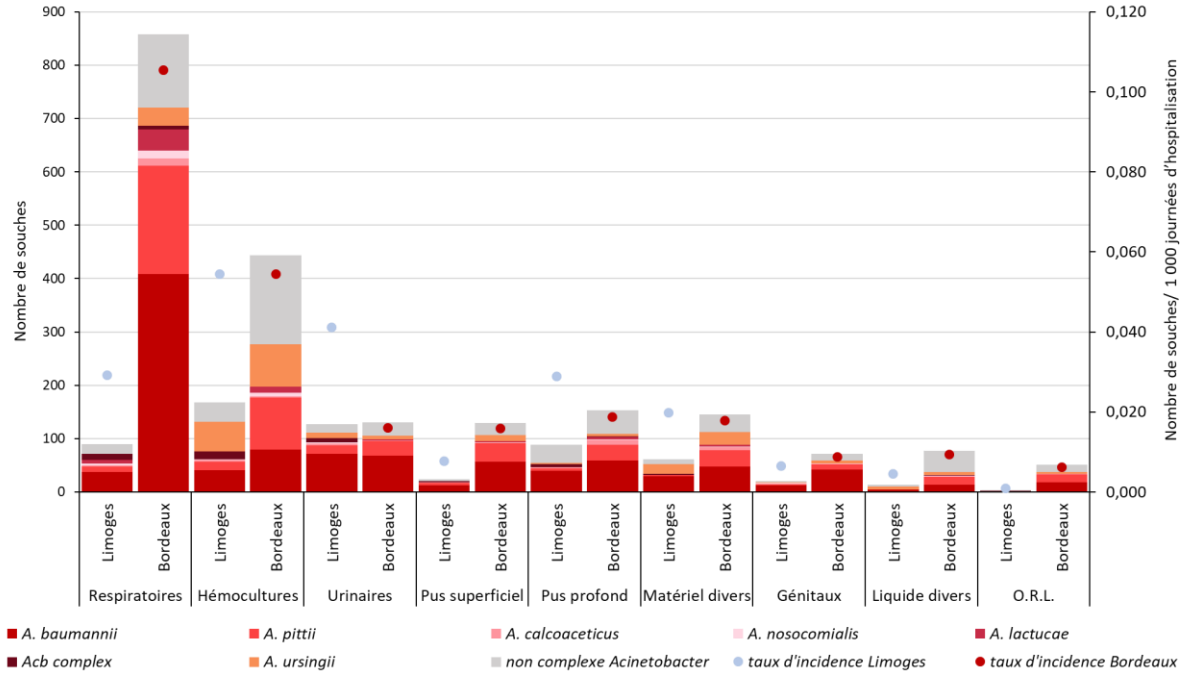


Figure 40 : Distribution des souches de *Acinetobacter* isolées au CHU de Limoges et de Bordeaux en fonction du type de prélèvements

Les histogrammes représentent le nombre de souches de *Acinetobacter* isolées par espèces au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux en fonction du type de prélèvements sur la période 2014-2024. Les espèces du complexe *Acb* sont représentées par un dégradé de rouge, *A. ursingii* en orange et les autres espèces de *Acinetobacter* en gris. Le taux d'incidence par type de prélèvements, exprimé en nombre de souches/1000 JH, est indiqué par des points bleus pour Limoges et bordeaux pour Bordeaux.

Ainsi Comme le montre la Figure, la majorité de souches de *Acinetobacter* ont été isolées de prélèvements respiratoires (expectoration, liquide broncho-alvéolaire, sécrétions ou aspiration trachéale…) et d'hémocultures (38% et 20% des isolats respectivement) au CHU de Bordeaux et au sein d'hémocultures (30%) et de prélèvements urinaires (23%) au CHU de Limoges. Ces résultats concordent avec ce qui est décrit dans la littérature, avec de nombreuses études qui mettent en avant la prédominance des atteintes respiratoires et des bactériémies dans les infections à *Acinetobacter spp*. avec des proportions variables selon les études (Custovic *et*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

al., 2014; Mellouli *et al.*, 2021; Uwingabiye *et al.*, 2016). De façon intéressante, bien que le nombre de souches isolées soit nettement plus faible au CHU de Limoges qu'au CHU de Bordeaux, le taux d'incidence pour les deux CHUs était similaire pour les prélèvements d'hémocultures et de matériel divers.

Si l'on s'intéresse à la diversité des espèces on s'aperçoit que, la proportion des espèces du complexe *Acb* variait de manière importante suivant le type de prélèvements, mais de façon similaire entre les deux CHUs (**Tableau 6**). En général le complexe *Acb* représentait la majorité des souches isolées (entre 58% et 85 %) sauf dans les hémocultures et les liquides divers où les souches n'appartenant pas au complexe *Acb* étaient majoritaires. De façon intéressante, au CHU de Limoges, parmi ces *Acinetobacter* non-*complexe,* on retrouvait une majorité de *A. ursingii* dans les prélèvements d'hémocultures, de liquides divers et de matériels divers (33,3%, 35,7% et 29,5% respectivement). C'est aussi dans deux de ces types de prélèvements que la proportion de *A. ursingii* était la plus forte au CHU de Bordeaux (17,8% et 16,6% pour les prélèvements d'hémocultures et de matériels divers respectivement).

Tableau 6 : Pourcentage des espèces du complexe *Acb*, de *A. ursingii* et des autres espèces isolées par type de prélèvement et par CHU

	Respiratoires		Hémocultures		Urinaires		Pus superficiel		Pus profond		Matériel divers		Génitaux		Liquides divers		O.R.L.	
	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux	Limoges	Bordeaux
% *Acb* complexe	78,9	80	45,2	44,6	79,5	75,6	83,3	73,6	58,4	68,6	55,7	60,7	85	74,6	35,7	41,6	66,7	66,7
% *A. ursingii*	0	4	33,3	17,8	7,9	5,3	4,2	9,3	3,4	2,6	29,5	16,6	5	8,5	35,7	7,8	0	7,8
% non-complexe/ non-*ursingii*	21,1	16,1	21,4	37,6	12,6	19,1	12,5	17,1	38,2	28,8	14,8	22,8	10	16,9	28,6	50,6	33,3	25,5

II.4. Focus sur les souches isolées d'hémocultures

Une hémoculture est définie comme un examen biologique qui consiste à mettre en culture du sang afin de détecter la présence de germe. Ainsi une hémoculture positive indique une bactériémie, qui peut alors évoluer vers un sepsis. Dû à l'importance clinique de ces infections, nous avons regardé l'évolution du nombre de souches de *Acinetobacter* isolées des hémocultures au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024 que nous avons mis en regard avec le nombre de patients infectés par CHU et par année (**Figure 41**). Pour réaliser ces analyses nous avons utilisé les données du dédoublonnage de type 2, correspondant à la diversité des espèces isolées à partir des prélèvements d'hémocultures, et du dédoublonnage de type 3 correspondant à une estimation du nombre de patients infectés, excluant les prélèvements de portage et les prélèvements pour lesquels aucun antibiogramme n'a été réalisé.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

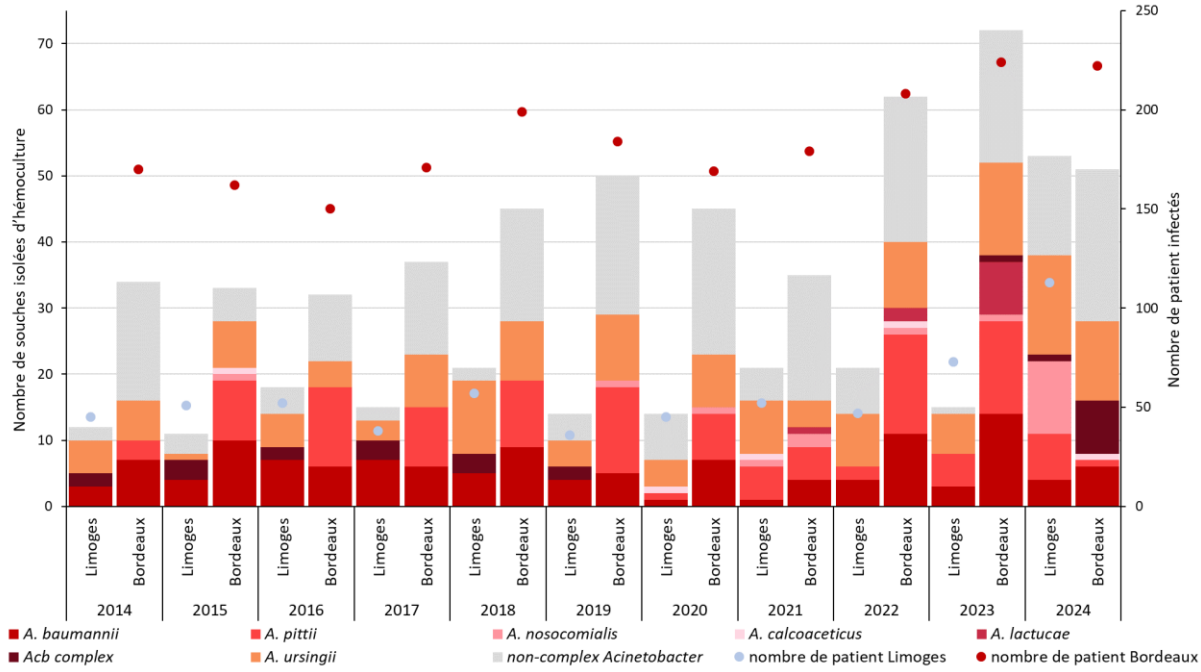


Figure 41 : Nombre de souches, par espèces, isolées d'hémocultures et nombre de patients infectés au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux entre 2014 et 2024

Les histogrammes représentent le nombre de souches de *Acinetobacter spp.* isolées d'hémocultures par année dans les CHUs de Limoges et de Bordeaux. Les espèces appartenant au complexe *Acb* sont représentées dans les tons rouges, *A. ursingii* en orange et les autres espèces du genre *Acinetobacter* regroupées en gris. Le nombre de patients infectés par *Acinetobacter* par année est indiqué par des points bleus pour le CHU de Limoges et bordeaux pour le CHU de Bordeaux.

Entre 2014 et 2024, le nombre de souches isolées d'hémocultures à Limoges a été multiplié par quatre, passant de 12 à 53 en onze ans. Concernant Bordeaux, le nombre de souches isolées par année a augmenté progressivement à partir de 2018 (hors pandémie de SARS-CoV2) passant de 34 à 51 sur la période. De façon intéressante, dans les hémocultures, la part des espèces n'appartenant pas au complexe *Acb* était globalement plus importante que le nombre de souches isolées appartenant au complexe *Acb* que ce soit pour Limoges ou Bordeaux, représentant certaines années jusqu'à 71% des isolats (Limoges 2022 ; **Figure 41**).

Lorsqu'on regarde le taux d'incidence des souches isolées d'hémocultures selon les années, il était globalement stable au CHU de Bordeaux et Limoges jusqu'en 2022, avec une légère augmentation progressive à partir de 2018 pour le CHU de Bordeaux (**Figure 42**). En 2024, on observe une forte augmentation (de 3,5 fois par rapport à 2023) du taux d'incidence des souches isolées d'hémocultures à Limoges.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Cependant l'incidence des patients infectés par une souche de *Acinetobacter*, quel que soit le type de prélèvement, était globalement plus élevée (1,16 à 1,8 fois) à Bordeaux qu'à Limoges jusqu'en 2023. En 2024, en corrélation avec l'augmentation observée du taux d'incidence des souches isolées d'hémocultures à Limoges, nous observons aussi une forte augmentation de l'incidence des patients infectés dans ce CHU (**Figure 42**).

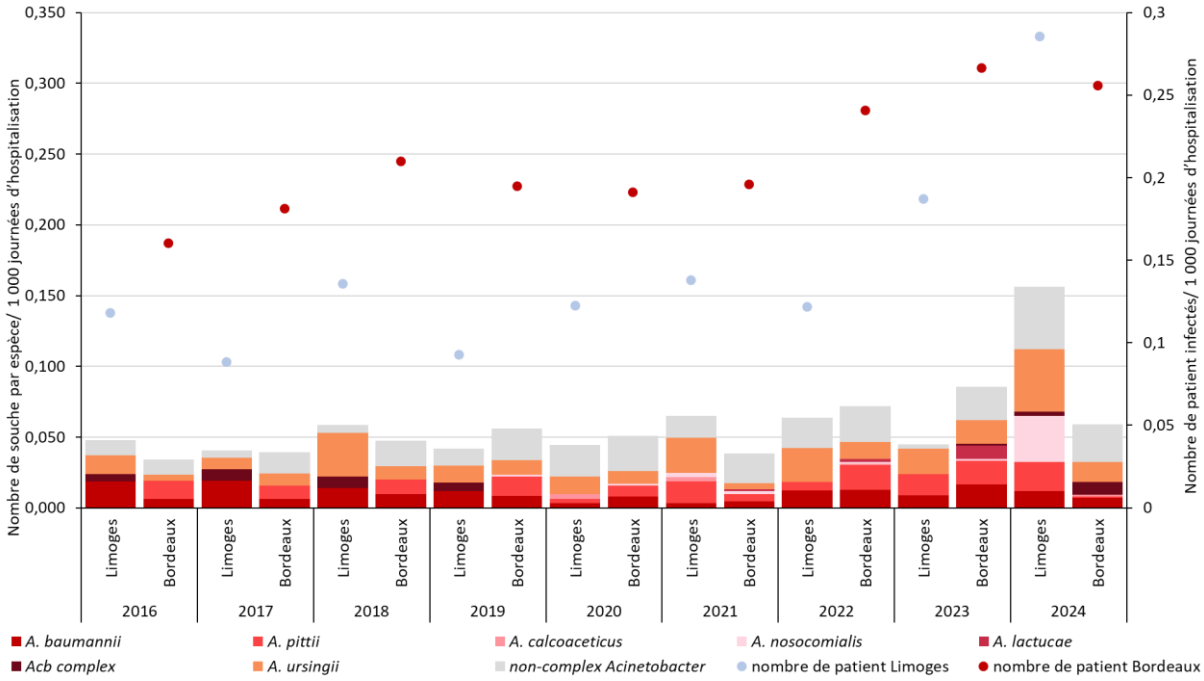


Figure 42 : Comparaison des taux d'incidence, par espèce, isolées d'hémocultures et incidence des infections à Acinetobacter au sein des CHUs de Limoges et Bordeaux entre 2014 et 2024

Les histogrammes représentent le taux d'incidence des souches de *Acinetobacter spp.* isolées au sein d'hémocultures par années dans les CHUs de Limoges et de Bordeaux. Sont représentés dans les tons rouges, les différentes espèces appartenant au complexe *Acb* ainsi qu'en orange, *A. ursingii*, un pathogène émergent ne faisant pas partie du complexe *Acb*. En gris sont regroupées les autres espèces du genre *Acinetobacter*. De plus sont représenté par des points les taux d'incidence des CHUs de Limoges (bleu-gris) et de Bordeaux (bordeaux) du nombre de patients infectés par *Acinetobacter*.

II.5. Evolution de la résistance aux carbapénèmes

Enfin, nous avons analysé l'évolution de la résistance aux carbapénèmes chez les souches de *Acinetobacter*. Pour cela, nous nous sommes focalisés sur la résistance des souches à l'imipenème ce qui nous a permis de déterminer la proportion des *CRAb* (**Figure 43**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

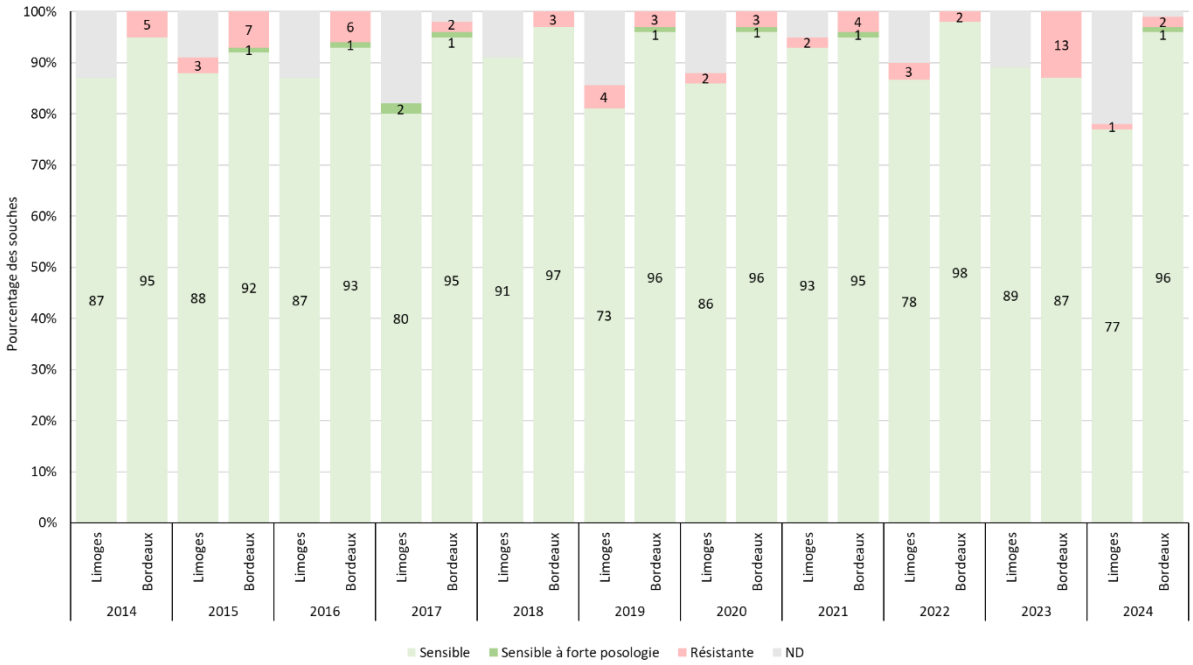


Figure 43 : Profil de sensibilité des souches l'imipenème par année et par CHU

En vert clair est représenté le pourcentage des souches S à l'imipenème, en vert foncé les souches D, en rouge les souches R et en gris les souches dont nous n'avions pas les données. Les données sont indiquées par CHU et par année.

Globalement, on peut remarquer que la très grande majorité des souches de *Acinetobater* isolées au sein des deux CHUs étaient sensibles aux carbapénèmes, les souches CR étant essentiellement isolées au CHU de Bordeaux. Au CHU de Limoges, le pourcentage de souches CR variait entre 0 et 4% selon les années, avec un total de 9 souches CR isolées sur la période analysée (2014-2024), dont quatre CRA*b*, trois *A. ursingii*, et une *A. nosocomialis*. Sur la même période, 158 souches CR ont été isolées au CHU de Bordeaux incluant 148 souches appartenant au complexe *Acb* (dont 138 CRA*b)*, cinq *A. sp*, deux *A. johnsonii*, deux *A. junii* et une *A. guillouiae*. Enfin, le pourcentage élevé de CRA*b* isolées à Bordeaux en 2023 est lié à l'épidémie ayant eu lieu cette année-là et qui est décrite plus loin dans ce manuscrit.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

III. Analyse transversale One-Health de la diversité des espèces de *Acinetobacter* sur l'année 2024

Afin d'avoir une vision représentative de cette diversité, nous avons limité le biais de sélection dans nos données en réalisant une analyse transversale sur une seule année. Pour les données humaines, nous avons inclus les souches de *Acinetobacter* isolées en 2024 au sein des CHUs de Limoges et Bordeaux. Pour les données animales et environnementales, nous avons inclus toutes les souches animales de notre collection isolées en 2024, et toutes les souches isolées à partir de prélèvements de terre et d'eau réalisés en 2024. Cela représente un total de 725 isolats répartis en 492 souches « cliniques » (168 isolées de patients traités au CHU de Limoges et 324 au CHU de Bordeaux), 49 souches « animales » et 184 souches « environnementales » (dont 96 prélèvements d'eau et 88 de prélèvements de terre), dont nous avons comparé la distribution et la diversité en espèces de *Acinetobacter* selon le concept One-Health.

III.1. Distribution des espèces par compartiment sur l'année 2024

L'analyse de la distribution par espèces est présentée **Figure 44**.

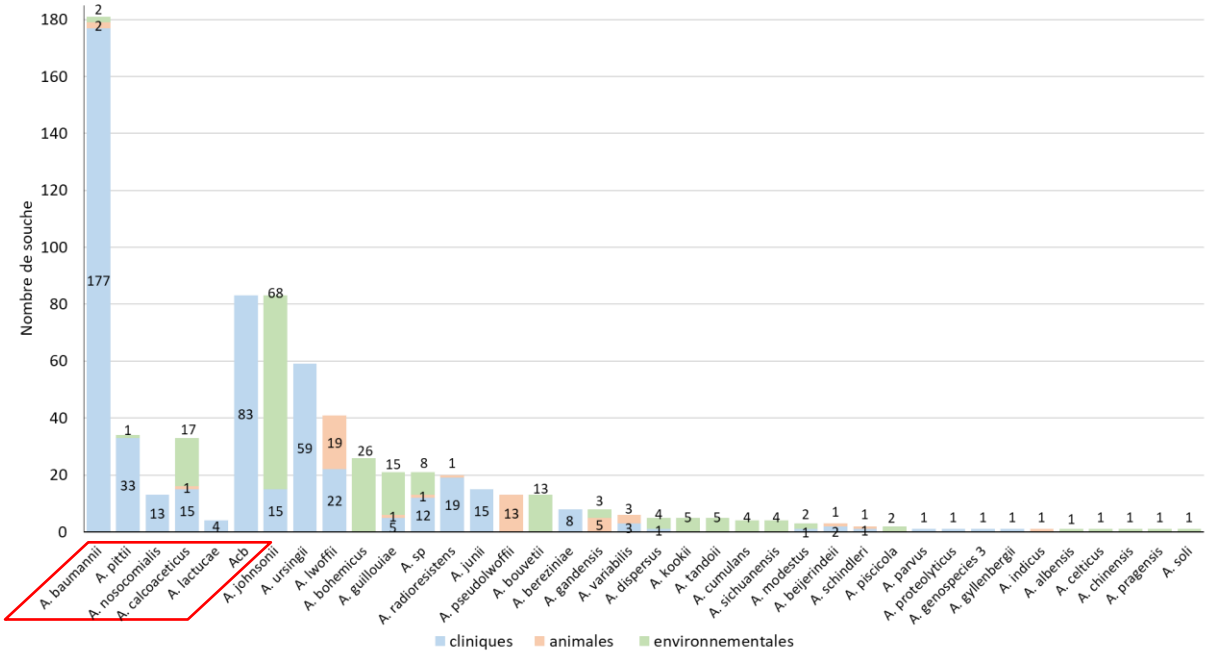


Figure 44 : Distribution des souches de *Acinetobacter* selon l'espèce et le compartiment d'origine

Représentation sous forme d'histogrammes empilés du nombre de souches, par espèces, de *Acinetobacter* isolées en 2024. Pour chaque espèce est indiqué le nombre de souche isolées à partir de prélèvements cliniques (en bleu), d'animaux (en orange) ou de l'environnement (en vert). Les espèces du complexe *Acb* sont encadrées en rouge.

En accord avec l'analyse de la collection (cf. section I.4.), cette figure met en évidence que peu d'espèces sont communes aux trois compartiments. Dans le compartiment clinique, 27 espèces différentes ont été identifiées. Les espèces du complexe *Acb*, à l'exception de *A.*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

calcoaceticus, étaient très majoritairement isolées en clinique. Ainsi, 66% des isolats cliniques appartenaient au complexe *Acb* avec *A. baumannii* représentant à minima 54,5 % du complexe et 36% des souches cliniques. Comme observé avec la collection complète, l'espèce la plus fréquemment isolée, après les espèces du complexe, était *A. ursingii* avec 12% des isolats. Les espèces suivantes les plus représentées en clinique (entre 5% et 3%) étaient *A. lowfii*, *A. radioresistens* et *A. junii*.

Si l'on s'intéresse aux souches animales, elles étaient réparties entre douze espèces dont une majorité appartenaient aux espèces *A. lwoffii* et *A. pseudlwoffii*, qui représentaient respectivement, 38,8% et 26,5% de ces souches, ce qui était en corrélation avec les résultats de notre première étude. Les trois autres espèces les plus représentées étaient *A. gandensis*, *A. variabilis* et *A. baumannii* (entre 10 et 4%).

Enfin concernant les souches isolées de l'environnement, on constate que parmi les 21 espèces identifiées, les mêmes deux espèces étaient prédominantes : *A. johnsonnii* (37%) et *A. bohemicus* (14,1%), suivie de *A. calcoaceticus* (9,2%)*, A. guillouiae* (8,2%) et *A. bouvetii* (7,1%).

Parmi les 38 différentes espèces isolées en 2024, seulement trois ont été isolées dans les trois compartiments, mais en proportion différentes. En effet, *A. baumannii* était quasi-exclusivement retrouvée chez l'Homme (97,8%), *A. guillouiae* dans l'environnement et chez l'Homme (71,4 et 25 % respectivement), et A*. calcoaceticus* se partageant entre les compartiments « cliniques » et « environnement » (45,5 et 51,5%). Cela correspond à ce qui est décrit dans la littérature. *A. guillouiae*, connue sous le nom de *Acinetobacter genomic species 11* jusqu'en 2010, est une espèce ubiquitaire, régulièrement isolée au sein de l'environnement mais qui peut être retrouvée dans des contextes cliniques humain ou vétérinaire (Bouvet & Grimont, 1986; Nemec *et al.*, 2010). Bien que représentant 4,2% des souches isolées dans notre étude, *A. guillouiae* reste généralement peu décrite avec seulement 28 publications répertoriées sur pubmed sur les 12 dernières années.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

III.2. Profil de sensibilité des souches par compartiments

Dans cette analyse sur l'année 2024, nous avons analysé un panel de 11 ATBs utilisés couramment en médecine humaine au lieu des 20 précedent qui regroupaient aussi des ATBs vétérinaires. Ce panel est, en partie, celui utilisé en routine aux CHUs de Limoges et Bordeaux, et donc celui pour lesquels les résultats d'antibiogrammes étaient disponibles pour les souches cliniques isolées en 2024. Les résultats sont présentés dans la **Figure 45**.



Figure 45 : Profil de sensibilité des souches en fonction de l'antibiotique testé et du compartiment

Le graphique indique, par compartiment et par antibiotique, le pourcentage des souches qui sont sensibles (vert clair), sensibles à fortes posologies (vert foncé) ou résistantes (rouge). En gris les souches cliniques pour lesquelles nous n'avons eu pas les données.

TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline - acide clavulanique ; IPM, imipénème ; FEP, céfépime ; AMI, amikacine ; TOB, tobramycine ; GEN, gentamycine ; CIP, ciprofloxacine ; SXT, triméthoprime - sulfamétoxazole ; PRL, pipéracilline ; TZP, pipéracilline -tazobactam.

De manière surprenante, si l'on compare les profils de résistance des souches isolées en 2024, selon leur origine (humaine, animale ou environnementale) pour les 11 ATBs testés, on constate que les souches isolées de patient des CHUs étaient plus sensibles que les souches animales et environnementales, sauf pour la PRL où la proportion de souches résistantes était proche dans les 3 compartiments.

Les résultats montrent que les souches environnementales étaient plus résistantes à la TIC (27%) et à la TCC (21%) que les souches cliniques (4 et 3%) ou animales (14 et 14%). De plus, plus de 20% des souches animales étaient résistantes à la CIP et au TZP et plus de 40% au SXT. Pour les autres ATBs testés, la différence n'était pas aussi marquée.

De façon générale, les souches isolées des animaux étaient plus résistantes avec 38,8% des isolats présentant un profil de multirésistance alors que sur la même période seules 1,2% des

Licence CC BY-NC-ND 4.0

souches cliniques et 2.1% des isolats environnementaux possédaient un profil de multi-résistance. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus dans notre première étude (paragraphe I.4.2) qui démontrait une proportion de souches présentant un profil de multirésistance (souches MDR et XDR) chez 16,6% des isolats cliniques, 10% des souches isolées chez les animaux et 11,5% des souches isolées au sein de l'environnement (prélèvement de terre et d'eau.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Conclusion intermédiaire

Ces premières études avaient pour objectifs d'identifier les potentiels niches écologiques des espèces de *Acinetobacter spp*. et de les caractériser. Pour cela nous avons construit une collection de souches de *Acinetobacter spp*. isolées de patients des CHUs de Limoges et de Bordeaux, d'animaux ainsi que de l'environnement (prélèvements de terre et d'eau). Plusieurs informations importantes ressortent de ce travail.

Tout d'abord, les espèces de *Acinetobacter* semblent avoir un tropisme pour certains environnements avec, en général, deux à trois espèces majoritairement isolées par compartiment qui ne sont pas ou peu retrouvées dans les autres. Ainsi, les espèces majoritairement isolées en **clinique humaine**, quelque soit l'étude, appartenaient au complexe *Acb* (regroupant *A. baumannii*, *A. pittii, A. calcoaceticus, A. nosocomialis, A. lactucae* et *A. seifertii*) qui représentaient, en moyenne, plus des 2/3 des isolats (69%) et plus précisément, *A. baumannii* et *A. pittii*. De manière intéressante nous avons mis en évidence une forte proportion de *A. ursingii* (11%) isolés majoritairement au sein d'hémocultures et de prélèvements respiratoires. De plus, la majorité des souches de *Acinetobacter* ont été isolées de prélèvements respiratoires, d'hémocultures et de prélèvements urinaires dans les deux CHUs. Enfin, excepté pour les hémocultures, où la part des espèces non-complexe était supérieure (≈55%), la part des espèces du complexe *Acb* était en moyenne de 78% dans les autres prélèvements. Chez les **animaux**, nous avons identifié une majorité de souches appartenant aux espèces *A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii* représentant 36% et 18% des isolats respectivement. D'autre part, les équins, caprins et bovins constituaient les trois espèces animales les plus représentées dans notre collection biologique et abritaient une grande diversité de *Acinetobacter*, avec sept à huit espèces distinctes identifiées selon l'hôte. Les espèces du *complexe Acb* arrivaient en 3ème position des souches isolées chez les animaux avec 11,2% des souches dont 9,2% de *A. baumannii*. Enfin, la majorité des souches isolées au sein de **l'environnement** appartenaient à *A. johnsonii* (36%) et *A. bohemicus* (13%). A contrario les espèces du complexe *Acb* ne représentaient que 6,6% des isolats isolés de prélèvements d'eau et 15% des prélèvements de terre avec une majorité de *A. calcoaceticus.* On peut aussi noter qu'au sein des souches environnementales, il existait des différences entre les prélèvements d'eau et de terre, semblant représenter des compartiments à part entière. En effet, le taux de positivité pour *Acinetobacter* était plus important au sein des prélèvements d'eau que de terre. De même la diversité était plus élevée dans les prélèvements d'eau (20 espèces différentes identifiées) par rapport aux prélèvements de terre (11 espèces différentes). De plus, la diversité était plus importante au niveau des échantillons de Limoges (22 espèces différentes) par rapport à ceux prélevés en Dordogne (9 espèces différentes). Cependant, comme indiqué précédement, il faut prendre en considération : (i) que le nombre

Licence CC BY-NC-ND 4.0

de prélèvements effectués dans ce département était plus faible mais aussi (ii) qu'aucun prélèvement d'eau n'avait été réalisé pour ces sites. De façon intéressante, nous n'avons pas identifié de corrélation entre la positivité des prélèvements environnementaux et le niveau d'anthropisation, que nous avions défini comme densité de l'activité humaine à proximité du point de prélèvement. Il serait intéressant de réaliser de nouveaux prélèvements couplés avec la mesure de biomarqueurs d'activité humaine afin de mesurer plus finement la relation entre la présence de *Acinetobacter spp.* et l'anthropisation.

La caractérisation des **phénotypes de résistance** des souches de la collection biologique a permis de mettre en évidence que, sur la totalité de la collection, 9,2% des souches étaient MDR (7,9% des souches cliniques, 10% des souches animales et 10,2% des souches environnementales) et 2,6% XDR (seulement isolées en clinique). De plus, douze IM1 (huit identifiés au sein de souches animales et quatre au sein de souches cliniques) et cinq IM2 (chez des souches cliniques) ont été identifiés au sein de la collection. Enfin, chez les souches isolées des prélèvements effectués chez les animaux, aucune des souches MDR ne portait un IM et en clinique humaine seulement 38% des isolats caractérisés en tant que multi-résistant (MDR et XDR) portaient un IM (IM1 et IM2). Les résultats concernant les souches cliniques sont rassurants car le pourcentage de souches présentant un profil de multirésistance (MDR et XDR) est plus faible que ce qui est rapporté dans la littérature avec seulement 16,6% de souches multi-résistantes sur la totalité de la collection clinique et 32% des *A. baumannii* plus précisément. Le niveau de résistance semblait plus faible dans les isolats vétérinaires mais restait néanmoins préoccupant. En effet, bien qu'aucune souche CR n'ait été identifiée, 10% des isolats étaient considérés comme étant MDR. A l'inverse dans l'étude transversale sur 2024, les souches isolées des animaux étaient plus résistantes avec 38,8% des isolats présentant un profil de multirésistance alors que sur la même période seules 1,2% des souches cliniques et 2.1% des souches environnementaux étaient caractérisées en tant que multi-résistantes. De façon intéressante, indépendamment du phénotype MDR ou XDR, les taux de résistance individuels pour les ATBs présentaient des différences marquées entre les compartiments. Par exemple le taux de résistance au TMP des souches environnementales était supérieur à celui des souches isolées au sein des autres compartiments avec 90% d'isolats R contre 76% chez les souches « animales » et 78% chez les souches « cliniques ». A l'inverse, les souches environnementales présentaient un pourcentage d'isolats S et D à la CRO élevé (près de 30%). L'hétérogénéité entre les souches isolées des prélèvements d'eau et de terre, au sein du compartiment environnemental, se retrouve aussi au niveau des profils de sensibilité aux ATBs. En effet, comme décrit, les souches de *A. bohemicus* isolées de l'eau étaient R à 100% pour le EFT alors que cela ne

Licence CC BY-NC-ND 4.0

représentait que 12,5% des souches isolées de la terre. Cette différence de profil de sensibilité entre les souches isolées de l'eau ou de la terre était aussi visible pour la CRO et le CEQ.
L'analyse des profils pour l'IPM (carbapénème) montre un pourcentage de R plus élevé pour les souches « cliniques » (11%) que les souches animales et environnementales (0 et 1%). Cependant, il faut tenir compte du biais de sélection de notre collection, puisque les souches cliniques du CHU de Bordeaux ont été sélectionnées selon leur profil de sensibilité en se focalisant sur les souches résistantes à l'imipénème. De plus, dans l'étude de l'évolution sur 11 ans s'affranchissant de ce biais, le pourcentage de souches résistantes à l'imipenème (CR) isolées au CHU de Limoges oscillait entre 0% et 4% selon les années dont 50% étaient des CRA*b*. En ce qui concerne les souches CR isolées au CHU de Bordeaux, 87% étaient des CRA*b* et le pourcentage d'isolat CR oscillait entre 2% et 13% selon les années. La proportion de CR la plus forte a été observée pour l'année 2023, année de lépidémie à CRA*b*. Dans notre analyse transversale, le pourcentage de souche R à l'IPM en clinique était inférieur, comparer à la collection, pouvant s'expliquer par (i) la différence dans le nombre d'isolat (126 contre 492), (ii) le fait que seules les souches isolées en 2024 étaient analysées, ne prenant donc pas en compte les souches CRA*b* isolées durant et (iii) le fait que la sensibilité à l'IPM n'était pas testée pour tous les isolats pouvant conduire à une variation des taux de résistance. Enfin les différences pour le SXT et le TZP touchaient les souches « animales » avec un nombre de souches R plus important dans l'étude transversale. Cependant, le nombre de souches incluses dans l'analyse de la diversité en 2024 était plus faible, ce qui peut expliquer en partie ces résultats.
En conclusion de cette première partie, nous avons identifié l'importance croissante en clinique, notamment dans les hémocultures de la part des *Acinetobacter* non-complexe, rendant nécessaire de mieux comprendre leur dynamique de persistance et de transmission dans l'environnement clinique. Nous avons aussi mis en évidence un tropisme marqué des espèces du genre *Acinetobacter* ainsi que de leur profil de résistance en fonction du compartiment étudié suggérant une adaptation à l'écosystème des différentes espèces. Un petit nombre d'espèces sont partagées entre les différents compartiments et peuvent représenter des vecteurs de transmission entre ceux-ci.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

IV. Etude de la dissémination et de la persistance de *Acinetobacter spp*. selon un continuum patient-rivière

La dernière étude de cette partie portait sur l'analyse de l'écologie et la résistance aux ATBs de *Acinetobacter spp*. selon un continuum allant du patient traité au CHU de Limoges et de son environnement clinique en passant par les effluents hospitaliers et la STEP, jusqu'à la rivière Vienne au niveau du rejet de la STEP. Le but de ce travail était de mieux comprendre le rôle de l'environnement clinique des patients et des effluents hospitaliers dans la persistance et la dissémination des espèces de *Acinetobacter spp*. au sein même de l'hôpital mais aussi de l'environnement via les rejets. Ce travail se focalisait surtout sur le rôle des siphons en tant que « hot-spot » dans le transfert de gène de résistance aux ATBs. Nous avons donc effectué des prélèvements le long du continuum, isolé et caractérisé les souches selon divers critères. Ce travail nous permettra, par la suite, de sélectionner un certain nombre de souches en fonction de leur profil de résistance, prévalence, etc afin de réaliser un séquençage NGS de leur génome.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le CHU de Limoges par une interne de pharmacie en année recherche sur le projet, Marie-Sarah Cayette que j'ai en partie supervisée. Les résultats sont présentés ci-dessous sous forme d'un article dont nous serons, Marie-Sarah Cayette et moi-même, co-premières autrices. Cet article sera soumis après séquençage et analyse des génomes.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Ecology and persistence of *Acinetobacter* along a patient to river continuum

Marie-Sarah CAYETTE[1,2*], Anne-Laure GUENIN[1*], Thibault STALDER[1], Christophe DAGOT[1], Sandra DA RE[1#], Elodie COUVE-DEACON[1,2#]

Affiliations:

[1]University of Limoges, INSERM, Limoges University Hospital, RESINFIT, U1092, Limoges, France

[2]Limoges University Hospital, Bacteriology-Virology-Hygiene Laboratory, Limoges, France

[*] These authors contributed equally to this work

[#] These authors contributed equally to this work

Corresponding author:

Elodie COUVE-DEACON, MCU-PH

Email: elodie.couve-deacon@unilim.fr

Keywords: *Acinetobacter spp., antibiotic resistance, effluent, sink trap, environment, One-Health*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii (Ab)* represents a significant threat to public health due to its antibiotic multi-resistance and its ability to persist on hospital surfaces and establish in hospital sewer system. While *A. baumannii* is extensively studied, *non-baumannii Acinetobacter* are increasing in human infections.

Objectives: We isolated *Acinetobacter* strains along a patient to river continuum, assess their persistence in the clinical environment and characterize them.

Methods: *Acinetobacter* strains were isolated from 20 hospitalized infected patients, their clinical environment (contact surfaces, sink/shower traps during patient's stay and at least two weeks after discharge), hospital effluents, the wastewater treatment plant and the river. Isolates were identified and characterized for clonal profile, presence of integrons and antibiotic susceptibility.

Results: A total of 397 strains (244 clones) were isolated, with three main species found in the patients (*A. baumannii*, *A. pittii* and *A. ursingii*) and two in their clinical environment (*A. ursingii* and *A. johnsonii*). Among the patients, three carried a clone which was also found in the sink trap in their room. Some clones found in the trap persisted several weeks after patient discharge. In addition, a persistent clone in the sink trap of an infected patient's room in intensive care was isolated from the patient who then occupied that room. Out of the 397 strains, only four carried a class 1 integron: three belonging to the same species were isolated from the same trap and one was a multi-drug resistant strain isolated from the hospital effluent.

Conclusion: Our study showed a significant colonization of sink traps by *Acinetobacter* genus, with both clinical and environmental species. Our results suggest that sinks could serve as a reservoir for *Acinetobacter spp.*, and be hot spots for the transmission of strains to both effluents and patients (via aerosolization).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Introduction

The *Acinetobacter* genus is composed of gram-negative, oxidase-negative and strictly aerobic coccobacilli. To date it includes 88 species found mainly in damp environments as well as in animals and humans (Adewoyin & Okoh, 2018). *Acinetobacter baumannii* (A*b*) is the most prevalent specie isolated from clinical samples. Ab is often multi-resistant to antibiotics and is responsible for severe infections in immunocompromised patients (Peleg et al., 2008; Perez et al., 2007). Over the past few years, extensively drug-resistant strains, specifically carbapenem-resistant A*b* (CRA*b*), have posed a serious threat, leading to difficult-to-treat infections with a high mortality rate (Isler et al., 2018). As a result, in 2017 the World Health Organization (WHO) included CRA*b* in its list of first priority pathogens for research and development of new antibiotics (« WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024). Moreover, A*b* is known for its capacity to form biofilms on surfaces and to survive to desiccation for several months. These traits have been associated with prolonged transmission during nosocomial outbreaks (Jawad et al., 1998). Moreover, in A*b* and other *Acinetobacter species*, multidrug resistance in clinical strains is significantly associated with the presence of class 1 and 2 integrons, bacterial genetic elements allowing bacteria to acquire and express ARGs (Martins et al., 2015; Shaheli et al., 2018).

Although *Acinetobacter* species are ubiquitous in nature, A*b* is the most widely described and studied species because of its role in human infections and its ability to persist in the clinical environment. With regard to pathogenic *Acinetobacter* species, the majority of them belong to the *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (*Acb*) complex who regroups genetically related species. This complex includes *A. calcoaceticus, A. baumannii, A. pittii* et *A. nosocomialis* (Gerner-Smidt et al., 1991), *A. seifertii* (Nemec et al., 2015) and *A. dijkshoorniae* (Cosgaya et al., 2016). The other species, known as *non-baumannii Acinetobacter,* are considered environmental species. Soils, Wastewater Treatment Plant (WWTP), and activated sludge are indeed habitats for different *Acinetobacter* species such as *A. baylyi, A. bouvetii, A. towneri* or *A. tandoii* (Al Atrouni, Joly-Guillou, et al., 2016). Other species (*A. lwoffi, A. johnsonii, A. pittii, A. junii, A. radioresistens*) have also been isolated from the human flora of healthy carriers in the nose, mouth, throat or armpits (Seifert et al., 1997). In the last decade, the prevalence of human infections with strains of *Acinetobacter non-baumannii* has been increasing, with some cases of multi-resistant strains (Al Atrouni, Joly-Guillou, et al., 2016). A recent study found that *non-baumannii Acinetobacter* species accounted for 6.2% of all *Acinetobacter* isolates and 0.7% of all bacterial isolates from clinical samples of a sentinel surveillance program across Russia and Kazakhstan (Sheck et al., 2023).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Carbapenemase-producing *Acinetobacter spp* strains have been isolated from hospital effluents, known to be major reservoirs of antibiotic resistance determinants (Zong & Zhang, 2013). Indeed bacteria of clinical interest resistant to various antibiotics, as well as numerous ARG, can be found in human effluents, particularly in hospital effluents (Hernández-González et al., 2022; Stalder et al., 2014). Hospital effluents are therefore considered to be 'hot spots' for intra- and inter-species exchanges of ARGs. Furthermore, resistant pathogens present in patients urine and feces, discharged into the institution's wastewater, can persist in hospital drainage systems, particularly in sink traps (McCallum & Hall, 2025).

Species within the *Acinetobacter* genus are naturally transformable bacteria, i.e. they can acquire genetic material present in the environment (Juni & Janik, 1969; Utnes et al., 2015). This natural competence allows them to potentially integrate ARGs into their genome through recombination (Almasaudi, 2018).

It has also been reported that A*b* can exchange ARGs with other highly critical pathogens such as *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* (Hernández-González et al., 2022). These inter species exchanges could underly the threat of ARG acquisition and spread related to *Acinetobacter* within the hospital effluents.

To better understand the risk of antibiotic resistance spread related to *Acinetobacter* from hospital effluents, we isolated *Acinetobacter spp.* strains along a continuum from patients of the Limoges University Hospital, through the hospital effluent, WWTP, down to the Vienne River, and characterized them. Our study shows a diversity of *Acinetobacter* species along the continuum with specificity of niches. It also suggests an underestimated role of sink trap in the transmission and persistence of *Acinetobacter* strains: they represent an interface of potential genetic elements and ARGs horizontal transfer between species and spread of species between niches.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Material and methods

Sampling campaign

The sampling campaigns consisted, over the same period, of a prospective collection of *Acinetobacter* strains isolated from infected patients, combined with samples from their clinical environment and water samples taken throughout the patient to the river continuum.

Patients sampling

An alert system was set on *Acinetobacter* strain isolated from patient samples (hospitalized and outpatients) at the microbiology laboratory of the Limoges University Hospital. For each patient we collected data on the *Acinetobacter* specie, its antibiotic susceptibility profile, the origin of the sample, the clinical department and the type of patient's accommodation (full hospitalization or outpatient) from the laboratory medical record.

Clinical environment sampling

We assessed the clinical environment of hospitalized patients, using surfaces swabbing (Invasive sterile EUROTUBO® Collection swab, Deltalab) during hospitalization, on the day after the alert. Surface samples were repeated at least two weeks and up to two months after the patient's discharge. During the 1st campaign, we sampled the sink and shower traps (individual or shared, depending on the department) and contact surfaces such as mattresses, bed rails and handles, electrocardiogram cables and the bedroom stethoscope, and other surfaces depending on the equipment. During the 2nd campaign, we only sampled the sink and shower traps. The samples were sowed within an hour.

Environmental water sampling

The continuum went along six sampling sites **(Figure 1)**: hospital effluents from the 2 main buildings of Limoges University Hospital (D1 and D2), WWTP influents (WI) and effluents (WE), and water upstream and downstream of the WWTP discharge into the Vienne River (up- and down-river). Samples were collected into sterile containers and were processed within 2 hours.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

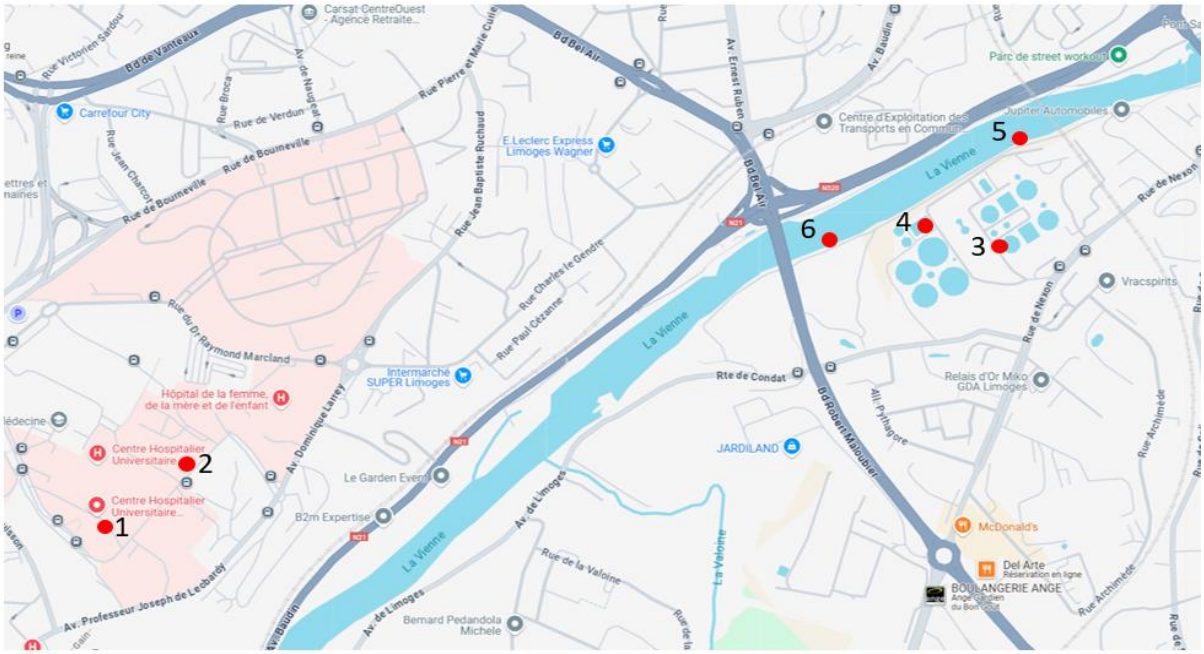


Figure 1: Map of the environmental sampling points along the continuum

Localization of the sampling sites are indicated in red dots: hospital effluents from buildings D1 et D2 (1 and 2 respectively), influent (3) and effluent (4) of the WWTP; Vienne river water upstream (5) and downstream (6) of the WWTP.

Isolation and identification of Acinetobacter strains

The patients contact surfaces swabs were streaked directly onto CHROMagar™ *Acinetobacter* plates. The sink and shower trap samples were discharged in 2 ml of sterile water using a vortex. The suspension was diluted 10-fold and 100 µl was sewed onto CHROMagar™ *Acinetobacter* medium in triplicate. For environmental samples, various amounts (100 µl for hospital effluent D1 and D2, WE water and the river downstream of the WWTP discharge, as well as 50-fold diluted samples from the WI and 300 µl for river water collected upstream of the WWTP discharge) were spread on CHROMagar™ *Acinetobacter* medium in triplicate. All agar plates were incubated for 24 hours at 32°C to approximate environmental conditions. After incubation, the oxidase negative red colonies on CHROMagar™ *Acinetobacter* were identified by matrix assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) (smartfleX, Bruker).

Molecular typing

The *Acinetobacter* strains genotyping was performed using the Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR (ERIC-PCR) (Aljindan *et al.*, 2018) with primers ERIC-1, ERIC-2 and VL1 (**Table S1**). The amplifications were carried out in 50 µl final volume using the OneTaq Master Mix (New England, Biolabs). The amplification reaction was performed in the Eppendorf™ Mastercycler™ thermocycler using an initial denaturation step at 94°C for 5 min, 36 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 39°C or 32°C, for ERIC-1/ERIC-2 or VL1 respectively, for 30 sec, extension at 68°C for 6 min and a final extension step at 68°C for

Licence CC BY-NC-ND 4.0

5 min. PCR products were analyzed by electrophoresis at 110 V for 60 min in 0.8% agarose in 0.5X Tris-Borate-EDTA containing Midori Green Advance DNA stain® (Nippon Europe Genetics GmbH Düren, Germany).

Clonal profiles were interpreted visually: an exactly identical bands profile was considered to be a clone; a difference of 1 to 3 bands was considered as a sub-type of the same clone, and more than 3 bands of difference as two distinct clones (Ying et al., 2015).

Integron detection

The presence of class 1, 2 and 3 integrons was determined using a quantitative multiplex real-time PCR according to (Barraud et al., 2010) using specific primers and probes described in **Table S1**.

Antibiotics susceptibility testing

We used a panel of 14 antibiotics (ticarcillin, ticarcillin-clavulanic acid, piperacillin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, tobramycin, gentamicin, amikacin, ciprofloxacin, levofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole). Antibiotic susceptibility (was determined by the Mueller-Hinton agar diffusion method (Mueller Hinton E agar (MHE), bioMérieux) in accordance with the French recommendations of CA-SFM 2023 (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

Natural transformation test

The method used was adapted from (Godeux *et al*; 2020), with technical triplicates performed for each strain tested. After overnight incubation at 37°C for patient strains and at 32°C for environmental strains (patient's clinical environment and water) on LB agar, the strains were cultured in 5 mL of LB until obtaining an OD_{600nm} of between 0.8 and 1. The cultures were then diluted to obtain an OD_{600nm} of 0.01 using a 5 g/L tryptone solution. 5 µL of the diluted culture was mix with 5 µL of tryptone (negative control) or 500 ng of genomic DNA from $CM152^{RIF}$ (*A. bauminnii* Clinical strain resistant to rifampicin) or pZA2oriA (plasmid carrying a resistance to Kanamycin for selection). 2.5 µL of each mixture was deposited on 500 µL of transformation medium composed of 5 g/L tryptone and 2% agarose D3 (Euromedex) poured in 2mL microtubes and incubated for 24 hours at 37°C or 32°C. The next day, the bacteria were resuspended in 300 µL of tryptone, and then serial dilutions were performed up to 10^{-7}. Seeding on agar plates was performed by depositing 40 µL drops on LB agar plates without antibiotic or supplemented with rifampicin or kanamycin. The plates were incubated at 32°C or 37°C overnight and the transformation frequency (TF) calculate.

Whole genome sequencing

Genomic DNA was extracted using the Bacterial DNA Extraction kit for SaMag (Sacace Biotechnologies) from colonies in the presence [20 µg/mL] of Monarch® RNAse A (New

Licence CC BY-NC-ND 4.0

England Biolabs). It was sent to the Plasmidsaurus (Plasmidsaurus, Eugene, OR, USA) for long-read sequencing (Oxford Nanopore Technology).

Results

Sampling campaigns

We carried out 2 sampling campaigns for one and a half month each, starting in February and in July 2024 (see Materials and Methods for details). Patients were included on an ongoing basis during laboratory monitoring of *Acinetobacter spp*. positive clinical samples. Forty patients isolate were included in the collection (20 out- and 20 inpatients). Mean age of patients was 59 years (range 18-88). The most frequent sample types positive for *Acinetobacter* were blood cultures (32.5%), followed by urine samples (22.5%), respiratory samples (17.5%) and genital swabs (10%).

To monitor the potential dissemination of the inpatients' *Acinetobacter* strains in their environment or their contamination from their environment, the 20 rooms, and common medical material, were sampled during hospitalization and after the patients discharged. We also collected *Acinetobacter spp.* strains isolated in the hospital effluents (HE) the WWTP influent (WI) and effluent (WE), and upstream (up-river) and downstream (down-river) of the WWTP discharge (**Figure 1**).

Identification and characterization of Acinetobacter isolates

Beside the 40 isolates from patients, a total of 350 *Acinetobacter* isolates were collected from the patient's clinical environment (188) and the downstream compartments: 29 from the HE; 33 from the WI and 49 from the WE; 11 from up- and 40 from the down-river (**Tables 1 and S2**). We identified 26 different *Acinetobacter* species (7 isolates could not be identified at the species level and were therefore discarded from the analyses) (**Table S2**). The clonality of the isolates per sampling sites was determined for each species using ERIC-PCR (see Materials and Methods for the definition of a clone). In total, there were 211 environmental clones: 65 in the clinical environment, 16 in the HE, 79 in WWTP and 51 in the river (**Tables 1 and S2**).

At the level of the species, across all compartments, the most represented species by far was *A. johnsonii* found in all the compartments, with 114 clones, followed by *A. ursingii* (31 clones including four subtypes), *A. pittii* (20 clones including six subtypes), *A. baumannii* (15 clones), *A. guillouiae* (10 clones), and *A. bouvetii* (8 clones). For the other species we isolated between 3 and 1 clones (**Table S2**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Table 1: Number of *Acinetobacter* isolates and clones in the different compartments

	Down-river	Up-river	WE	WI	HE	Clinical environment	Inpatients	Outpatients	Total
Number of isolates	40	11	49	33	29	188	20	20	350
Number of clones	40	11	49	30	16	65	20	20	251

Integrons being associated with multiresistance, we screened the 251 clones for the presence of class 1, 2, and 3 integrons. Only 4 clones were positive for class 1 integron: three *A. ursingii* isolated from the same sink trap during a post hospitalization campaign and one clone of *A. johnsonii* isolated from the HE. The sensitivity profile was determined for a subset of clones (**Figure S1**): all patient isolates, clones of the clinical environment belonging to species common to the patient and the strains carrying an integron. Among all these strains, only the HE isolates carrying a class 1 integron was considered as multi-drug resistant due to its resistance to more than 3 antibiotic families. All the other strains analyzed showed isolated resistance to only one or two categories of antibiotics.

The natural transformation capacity of the same subset of clones was evaluated. Among them 35% of the patient's isolates were naturally transformable (11 A*b*, 2 *A. pittii*, and 1 *A. nosocomialis*) and only one environmental isolate (*A. pittii*) isolated from a shower sink. Transformation Frequency varied widely across the isolates, ranging from 10^{-8} to 10^{-4} for clinical A*b* - in line with Godeux *et al.* (2020) results - and from 10^{-5} to 10^{-7} for the other species (Figure S1).

Diversity of Acinetobacter isolates along the continuum

Four different species were isolated from the 20 outpatients (**Figure 2**) with the *Acb complex* representing 70% of the isolated strains (10 *Ab*, 3 *A. pittii and* 1 *A. nosocomialis*) and 6 *A. ursingii* (**Table S2**). There was greater diversity among inpatients with 8 isolated species with the *Acb* complex representing 65% of the isolates. Only 3 species were common between the in- and the outpatients: *Ab*, *A. pittii* and *A. ursingii,* representing 75% of the strains. The other species were *A. guillouiae, A. johnsonii, A. lwoffii, A. radioresistens* and *A. parvus* with one strain each. In the clinical environment, we isolated five species common to the patients: *A. pittii*, *A. ursingii*, *A. guillouiae*, *A. johnsonii* and *A. lwoffii*. The other *Acinetobacter* species of this compartment were *A. junii*, *A. lactucae, A. gyllenbergii* and *A. proteolyticus*. Three species dominated this compartment with *A. ursingii* and *A. johnsonii* representing 71% of the clones and *A. pittii* 14%. In the five environmental compartments, we isolated 7 to 12 different species of *Acinetobacte*r. The diversity varied between the localizations from lower to greater diversity: up-river = down-river < hospital effluents = WI < WE. The main specie found in these

Licence CC BY-NC-ND 4.0

compartments was *A. johnsonii,* one of the three main species found in the clinical environment samples. *A. guillouiae* and *A. johnsonii* represented half of the clones found in the HE. Moreover, only one clone of the *Acb* complex was found in each of the environmental compartment.

Globally as shown in Figure 2, three species were predominantly isolated: those of the Acb complex, *A. ursingii* and *A. johnsonnii*. The first two accounted for the majority of strains identified in patients, while the latter was the most prevalent in environmental waters. The clinical environment, meanwhile, contained the three strains, with a similar high proportion of *A. ursingii* and *A. johnsonnii*.

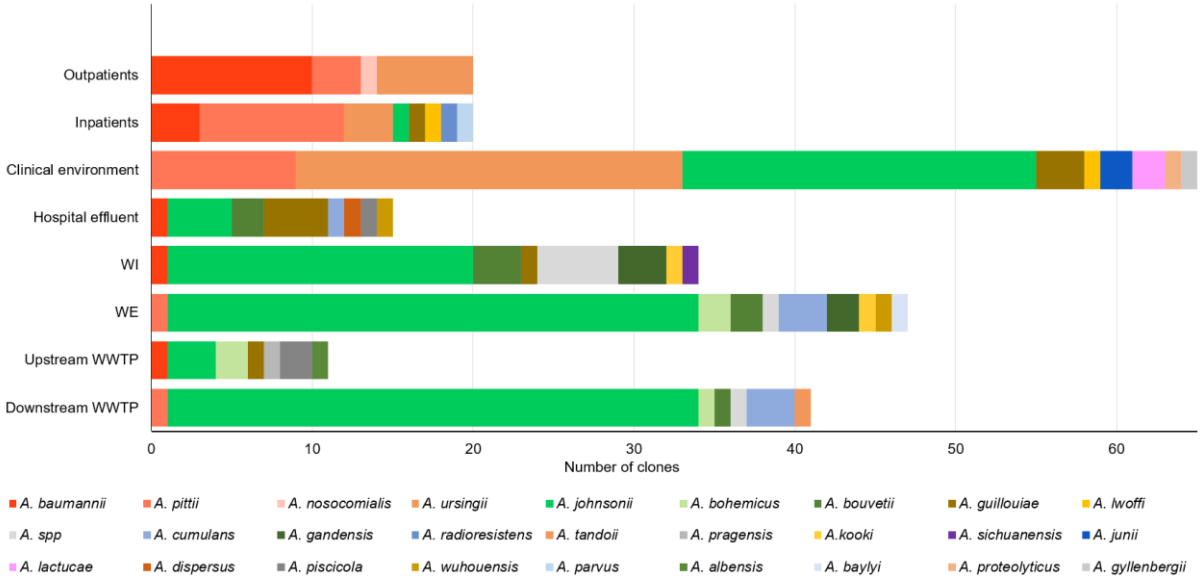


Figure 2: Distribution of the *Acinetobacter* species isolated along the continuum

The species isolated in the sampled compartments is shown as a number of clones per species in the compartment. Outpatients: patient attending a day hospital or consultation; inpatients: hospitalized patients; clinical environment: swab of patient room and medical material; HE: hospital effluents; WI: WWTP influents; WE: WWTP effluents; up-river: river water sampled upstream of the WWTP; down-river: river water sampled downstream of the WWTP.

Dissemination and persistence of Acinetobacter in the clinical environment

Out of the 20 rooms sampled during hospitalization 70% were positive for *Acinetobacter:* in five cases the same species was isolated from the patient and their clinical environment, and in three cases it was the same clone (**Figure 3.A**).

Among the 75 sites sampled during hospitalizations (**Table S3**), 29% were positive for *Acinetobacter* species. Although sink and shower traps represented around half of the sampling sites (n=33), 2/3 (63%) of theses traps were positive, indicating they are a potential niche for *Acinetobacter*. To evaluate the bacterial persistence, the positive sink and shower traps were also sampled post-hospitalization. Sixteen of the 33 positive traps (48%) were positive again for *Acinetobacter spp*., with 4 of the isolated strains corresponding to the same

Licence CC BY-NC-ND 4.0

species as those isolated from the same trap during hospitalization. In 56% of cases, the species differed from that initially present in the trap. Furthermore, post-hospitalization samples showed persistence of isolates in the trap in 19% of cases (n=3) and in 62% (n=10) the sink was decolonized a few weeks later.

Dissemination of Acinetobacter strains between patients and the clinical environment

Throughout the continuum we found only 3 clones that were shared between 2 compartments: the inpatients and the clinical environment. For 3 patients, the same clone was isolated in the sink trap of a room and in the patient clinical sample (**Table S3; Figure 3.A**).

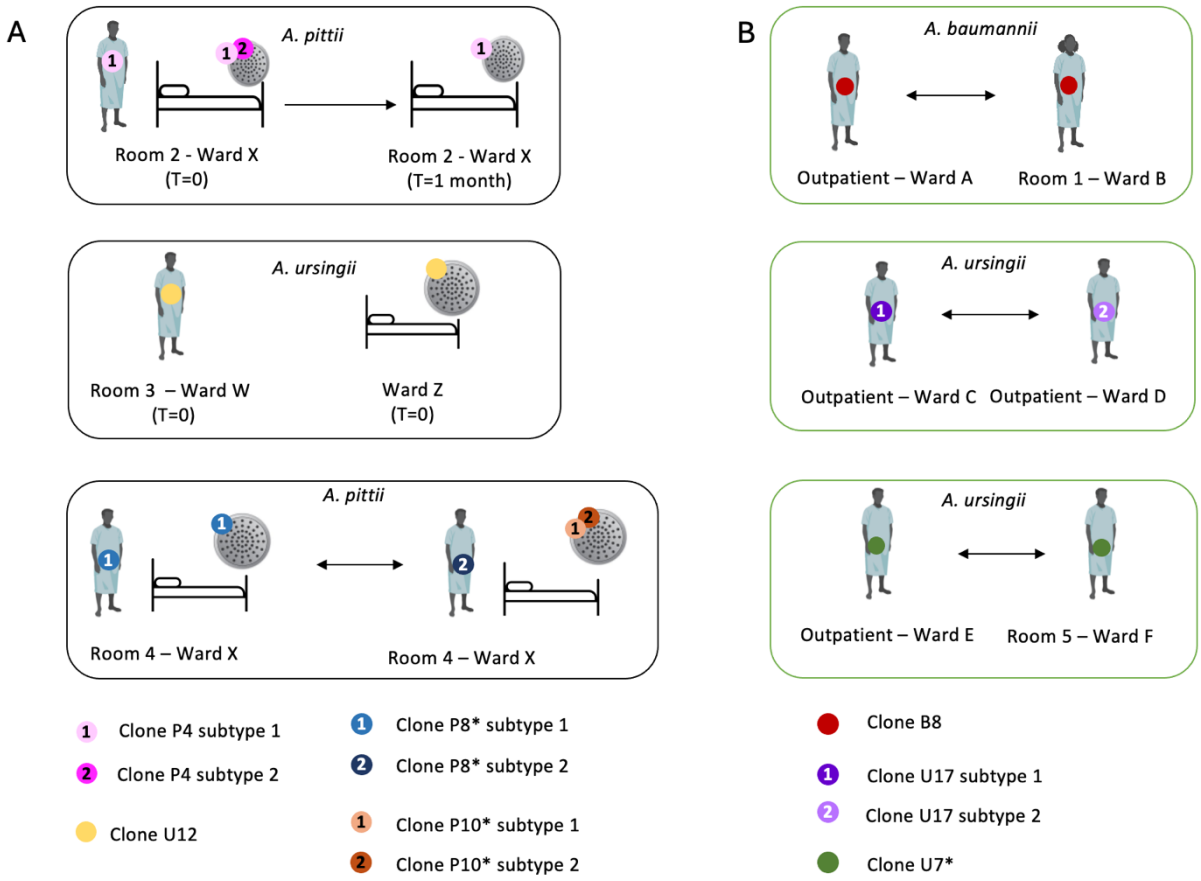


Figure 3: **Potential dissemination of *Acinetobacter* clones**

A. Clones shared between patients and the clinical environment. **B.** Clones shared between patients. Each colored circle corresponds to one clone, the number inside the circle represents a subtype of the same clone.

An *A. pittii* clone (P4) isolated from a patient were also found in the sink trap of his room at the time of hospitalization and persisted for several weeks after the patient's discharge. Moreover, a subclone was also isolated at the time of hospitalization but did not persist. Interestingly in the 2nd situation, a clone of *A. ursingii* (U12) isolated from a patient's was isolated from a shower trap in another ward. In the 3rd situation another clone of *A. pittii* (P8) isolated from a patient was isolated in the sink trap of his room. This clone did not persist over time but a subtype of this clone was isolated from the next patient hospitalized in the same room few

Licence CC BY-NC-ND 4.0

days after. Moreover, we identified two subtypes of an *A. pittii* clone (P10) in the sink trap of the patient room. Along with the colonization of the trap with the same clone, this situation strongly supports a cross transmission from the first patient to the second through clinical environment. We also identified three cases of potential clonal spread within patients (**Figure 3B**). The same *Ab* clone (B8) was found in a blood culture from an outpatient and in a hospitalized patient. A subtype of an *A. ursingii* clone (U17) was isolated from a patient in ward C and a patient in ward D. Finally, an *A. ursingii* clone (U7*) was detected simultaneously in an outpatient and in a hospitalized patient.

Sequencing

The isolation, from the same sink trap, of the three different clones of *A. ursingii* carrying a class 1 integron (strains 12p1, 12p2 and 12p9; **Figure S1**) suggest that these strains could have exchanged genetic material. Moreover, a *A. johnsonnii* strain, isolated from HE also carryied a class 1 integron. Some strains seem to have evolved as subtypes showing difference in their susceptibility profiles. These strains will be submited to whole genome sequencing to investigate potential genetic material exchanges and the evolution of clones within patients or/and in the clinical environment.

Discussion

In order to gain a better understanding of the dynamics of presence, persistence and spread of *Acinetobacter* species from the hospital setting to the environment, we sampled a continuum spanning from patients and their clinical environment to river water, via hospital and WWTP effluents. We isolated *Acinetobacter* species to evaluate their dissemination across compartments by comparing clonal profiles and species characterization.

We performed two short sampling campaigns, one in winter and one in summer but the seasons seems to not have an impact on our results. We identified the presence of *Acinetobacter* species in each compartment sampled including 33% of the sampling sites in the clinical environment of patients (mostly in sink and shower traps). This prevalence is higher than in other studies, where *Acinetobacter* spp. was found in only 2.4% of hospital surfaces (Blehm *et al.* 2022) and 19.8% of environmental samples (Yusuf *et al.* 2025). This difference can be explained by several methodological aspects. We used a selective medium for *Acinetobacter* specie that greatly facilitated their detection (Gordon et Wareham 2009). But above all, we observed that samples storage conditions were essential. Depending on these conditions, the samples displayed considerable variability in both the proportion and type of *Acinetobacter* species isolated. We observed that, after storing the samples for just a few days at 4°C, we could no longer isolate *Acinetobacter* strains.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Among the *Acinetobacter* species, mostly *Ab* is considered to be a threat to patients (Lodise *et al.* 2025; Yehya *et al.* 2025). However, 3 main species were isolates from the patients, *Ab*, *A. pittii* and *A. ursingii*. *Ab* accounted for 50% of the strains isolated from outpatients, and a mere 15% of the strains isolated from the inpatients. The main species isolated from inpatients was *A. pittii* (45%) followed equally by *Ab* and *A. ursingii* (15% each). These results are consistent with recent reports showing that non-*baumannii* species are increasingly recognized as clinically relevant nosocomial pathogens with concerning resistance profiles (Sheck *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2025). A high diversity of *Acinetobacter* species was also isolated from the clinical environment of infected patients mainly from the sink and shower traps, which showed a high positivity rate (71%). The three main species found in traps were *A. ursingii, A. pittii* - both found in patients- and *A. johnsonnii* (**Figure 2**). This latter species was the predominant one in all the water compartments ranging from 25% in HE to 82.5% in the river water downstream the WWTP. Clonal diversity was highest in environmental waters (HE, WWTP), with a similar species distribution observed between HE and WI. Our results therefore show that sink and shower traps in patient rooms act as an interface between the different ecosystems, supporting their role as transitional reservoirs that may both seed effluents and facilitate patient recontamination through aerosolization during water use (Schneider *et al.*, 2023). However, in our study the clones recovered from the traps were more often distinct from those isolated from patients. Of the 14 patients'rooms positive for *Acinetobacter*, the species isolated from a trap was the same as the patient isolate in 5 of the rooms, but only two clones were shared between the patient and its immediate clinical environment. Nevertheless, one of these two shared clones (*A. pittii*) was isolated subsequently as a clone sub-type in another patient that was admitted to the same room after discharge of the 1st patient, suggesting a potential nosocomial transmission originating in the sink trap.

Analysis of the clonal relationship between the different compartments also revealed other potential transmission events between patients and their environment or between patients (**Figure 2**). Other situations suggest a larger dissemination in the hospital of *Acinetobacter* clones. Indeed, clonal *Ab* isolates were recovered during the same sampling campaign from two patients hospitalized in different wards. Moreover, clonal *A. ursingii* isolates were detected in two patients (an in- and an outpatient) from different wards. In addition, in 3 rooms, an *Acinetobacter* clone persisted several weeks in the sink traps after discharge of the infected patient. Even though in these specific situations we didn't identify environmental transmission, the persistence of potentially pathogens in the clinical environment raises concerns about nosocomial transmission.

While *Ab* has traditionally been the primary focus of nosocomial transmission studies, our findings emphasize that other species, such as *A. pittii* and *A. ursingii* are also capable of

Licence CC BY-NC-ND 4.0

spreading between patients and should, therefore, be considered in epidemiological investigations.

The strains isolated in this study did not generally have a high antimicrobial resistance profile. Only one environmental *A. johnsonii* isolate was multidrug-resistant. Accordingly, integrons were rare, with only four strains (isolated from a sink trap and HE) out of the 390 carried a class 1 integron, of which the multidrug resistant *A. johnsonnii* strain. Interestingly, the 3 other strains carrying an integron were isolated from the same trap; and displayed different Eric-PCR profiles. Furthermore one had a different sensitivity profile, suggesting that the integron, usually carried by mobile genetic elements (M. R. Gillings, 2014b; Partridge et al., 2018) could have been exchanged between the strains. Whole genome sequencing should provide the answer ou alors Whole genome sequencing however did not confirm this hypothesis, as these strain

In conclusion, this study provides new insights into the ecology and genetic dynamics of *Acinetobacter* genus across clinical and environmental compartments. By integrating patient, hospital and environmental isolates, we highlight that dissemination could involves both inter-patient transmission events and heavily colonized but heterogeneous environmental reservoirs, particularly sink trap.

This work provides an overview of the distribution of *Acinetobacter* species along a continuum from patients to the environment. It highlights the interaction between clonal propagation, environmental reservoirs and genetic exchange. We show that colonization and infection are not limited to A*b*, but also involve *non-baumannii* species, which have been shown to spread between patients and to persist in ecological niches such as sink trap. Our results indicate that sinks act as transient reservoirs, facilitating both the dissemination of clones in waste water and the potential for contamination of patients. Monitoring trap would be essential in order to anticipate the emergence of resistant clones and implement more effective measures to control and prevention infections.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Bibliography

Adams, Felise G., et Melissa H. Brown. 2019. « MITEAba12, a Novel Mobile Miniature Inverted-Repeat Transposable Element Identified in Acinetobacter baumannii ATCC 17978 and Its Prevalence across the Moraxellaceae Family ». *mSphere* 4(1): e00028-19. doi:10.1128/mSphereDirect.00028-19.

Adewoyin, Mary A., et Anthony I. Okoh. 2018. « The Natural Environment as a Reservoir of Pathogenic and Non-Pathogenic Acinetobacter Species ». *Reviews on Environmental Health* 33(3): 265-72. doi:10.1515/reveh-2017-0034.

Al Atrouni, Ahmad, Marie-Laure Joly-Guillou, Monzer Hamze, et Marie Kempf. 2016. « Reservoirs of Non-Baumannii Acinetobacter Species ». *Frontiers in Microbiology* 7: 49. doi:10.3389/fmicb.2016.00049.

Almasaudi, Saad B. 2018. « *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features ». *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(3): 586-96. doi:10.1016/j.sjbs.2016.02.009.

Barraud, Olivier, M Baclet, François Denis, et Marie-Cecile Ploy. 2010. « Quantitative multiplex real-time PCR for detecting class 1, 2 and 3 integrons ». *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 65: 1642-45. doi:10.1093/jac/dkq167.

Cosgaya, Clara, Marta Marí-Almirall, Ado Van Assche, Dietmar Fernández-Orth, Noraida Mosqueda, Murat Telli, Geert Huys, et al. 2016. « Acinetobacter dijkshoorniae sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex mainly recovered from clinical samples in different countries ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66(10): 4105-11. doi:10.1099/ijsem.0.001318.

Gerner-Smidt, P, I Tjernberg, et J Ursing. 1991. « Reliability of phenotypic tests for identification of Acinetobacter species. » *Journal of Clinical Microbiology* 29(2): 277-82.

Gillings, Michael R. 2014. « Integrons: Past, Present, and Future ». *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* 78(2): 257-77. doi:10.1128/MMBR.00056-13.

Hernández-González, Ismael L., Valeria Mateo-Estrada, et Santiago Castillo-Ramirez. 2022. « The Promiscuous and Highly Mobile Resistome of Acinetobacter Baumannii ». *Microbial Genomics* 8(1): 000762. doi:10.1099/mgen.0.000762.

Isler, Burcu, Yohei Doi, Robert A. Bonomo, et David L. Paterson. 2018. « New Treatment Options against Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Infections ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63(1): 10.1128/aac.01110-18. doi:10.1128/aac.01110-18.

Jawad, A., H. Seifert, A. M. Snelling, J. Heritage, et P. M. Hawkey. 1998. « Survival of Acinetobacter Baumannii on Dry Surfaces: Comparison of Outbreak and Sporadic

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Isolates ». *Journal of Clinical Microbiology* 36(7): 1938-41. doi:10.1128/JCM.36.7.1938-1941.1998.

Juni, E., et A. Janik. 1969. « Transformation of Acinetobacter Calco-Aceticus (Bacterium Anitratum) ». *Journal of Bacteriology* 98(1): 281-88. doi:10.1128/jb.98.1.281-288.1969.

Martins, Natacha, Renata Cristina Picão, Sheila Adams-Sapper, Lee W. Riley, et Beatriz Meurer Moreira. 2015. « Association of Class 1 and 2 Integrons with Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii International Clones and Acinetobacter Nosocomialis Isolates ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59(1): 698-701. doi:10.1128/AAC.02415-14.

McCallum, Gregory E., et James P. J. Hall. 2025. « The hospital sink drain microbiome as a melting pot for AMR transmission to nosocomial pathogens ». *npj Antimicrobials and Resistance* 3: 68. doi:10.1038/s44259-025-00137-9.

Nemec, Alexandr, Lenka Krizova, Martina Maixnerova, Ondrej Sedo, Sylvain Brisse, et Paul G. Higgins. 2015. « Acinetobacter seifertii sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex isolated from human clinical specimens ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65(Pt_3): 934-42. doi:10.1099/ijs.0.000043.

Partridge, Sally R., Stephen M. Kwong, Neville Firth, et Slade O. Jensen. 2018. « Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance ». *Clinical Microbiology Reviews* 31(4): e00088-17. doi:10.1128/CMR.00088-17.

Peleg, Anton Y., Harald Seifert, et David L. Paterson. 2008. « Acinetobacter Baumannii: Emergence of a Successful Pathogen ». *Clinical Microbiology Reviews* 21(3): 538-82. doi:10.1128/CMR.00058-07.

Perez, Federico, Andrea M. Hujer, Kristine M. Hujer, Brooke K. Decker, Philip N. Rather, et Robert A. Bonomo. 2007. « Global Challenge of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51(10): 3471-84. doi:10.1128/AAC.01464-06.

Seifert, H, L Dijkshoorn, P Gerner-Smidt, N Pelzer, I Tjernberg, et M Vaneechoutte. 1997. « Distribution of Acinetobacter Species on Human Skin: Comparison of Phenotypic and Genotypic Identification Methods ». *Journal of Clinical Microbiology* 35(11): 2819-25. doi:10.1128/jcm.35.11.2819-2825.1997.

Shaheli, M., M. Baseri Salehi, et N. Bahador. 2018. « The Influence of Integrons on Multidrug Resistant Acinetobacter Spp. Isolated from Environment and Clinical Samples ». *Tropical Biomedicine* 35(2): 354-64.

Sheck, Eugene, Andrey Romanov, Valeria Shapovalova, Elvira Shaidullina, Alexey Martinovich, Natali Ivanchik, Anna Mikotina, et al. 2023. « Acinetobacter Non-Baumannii Species: Occurrence in Infections in Hospitalized Patients, Identification,

Licence CC BY-NC-ND 4.0

and Antibiotic Resistance ». *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 12(8): 1301. doi:10.3390/antibiotics12081301.

Stalder, Thibault, Olivier Barraud, Thomas Jové, Magali Casellas, Margaux Gaschet, Christophe Dagot, et Marie- Cécile Ploy. 2014. « Quantitative and qualitative impact of hospital effluent on dissemination of the integron pool ». *The ISME Journal* 8(4): 768-77. doi:10.1038/ismej.2013.189.

Utnes, Ane L G, Vidar Sørum, Nils Hülter, Raul Primicerio, Joachim Hegstad, Julia Kloos, Kaare M Nielsen, et Pål J Johnsen. 2015. « Growth phase-specific evolutionary benefits of natural transformation in Acinetobacter baylyi ». *The ISME Journal* 9(10): 2221-31. doi:10.1038/ismej.2015.35.

« WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: Bacterial Pathogens of Public Health Importance to Guide Research, Development and Strategies to Prevent and Control Antimicrobial Resistance ». https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461 (25 juillet 2024).

Ying, Chunmei, Yongli Li, Yaping Wang, Bing Zheng, et Chengde Yang. 2015. « Investigation of the Molecular Epidemiology of Acinetobacter Baumannii Isolated from Patients and Environmental Contamination ». *The Journal of Antibiotics* 68(9): 562-67. doi:10.1038/ja.2015.30.

Zong, Zhiyong, et Xingzhuo Zhang. 2013. « BlaNDM-1-Carrying Acinetobacter Johnsonii Detected in Hospital Sewage ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 68(5): 1007-10. doi:10.1093/jac/dks505.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

483 Supplementary Tables and Figures

484 Table S1: Primers and probes used during this study

Names	Sequences (5'-3')	Target	References
Primers			
intI1-LC1	GCC TTG ATG TTA CCC GAG AG	*intI1*	(Barraud et al., 2010)
intI1-LC5	GAT CGG TCG AAT GCG TGT		
intI2-LC2	TGC TTT TCC CAC CCT TAC C	*intI2*	
intI2-LC3	GAC GGC TAC CCT CTG TTA TCT C		
intI3-LC1	GCC ACC ACT TGT TTG AGG A	*intI3*	
intI3-LC2	GGA TGT CTG TGC CTG CTT G		
ERIC-1	ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C		(Ying et al., 2015)
ERIC-2	AAG TAA GTG ACT GGG GGT GAG CG		
VL1	GAG GGT GGN GGN TCT		(Couvé-Deacon et al., 2019)
probes			
intI1-sonde	(6-FAM) ATT CCT GGC CGT GGT TCT GGG TTT T (BHQ1)	*intI1*	(Barraud et al., 2010)
intI2-sonde	(Texas Red) TGG ATA CTC GCA ACC AAG TTA TTT TTA CGC TG (BHQ2)	*intI2*	
intI3-sonde	(Cy5) CGC CAC TCA TTC GCC ACC CA (BHQ3)	*intI3*	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

485 **Table S2: Distribution of isolates and clones of different species of *Acinetobacter* according to location**

Species	Down river		Up river		WWTP output		WWTP input		Hospital effluents		Clinical environment		Patients	
	isolates	clones	isolates	clones	isolates	clones	isolates	clones	isolates	clones	isolates	clones	isolates	clones
A. baumannii			1	1			1	1	1	1			13	9
A. pittii	1	1			1	1					30	9	12	11
A. nosocomialis													1	1
A. lactucae											2	2		
A. johnsonii	33	33	3	3	33	33	20	19	6	4	62	21	1	1
A. ursingii											67	25	9	7
A. guillouiae			1	1			1	1	15	4	10	3	1	1
A. junii											11	2		
A. bouvetii	1	1			2	2	4	3	2	2				
A. gandensis					2	2	3	3						
A. sp	2	1			1	1	4	5						
A. bohemicus	1	1	2	2	2	2								
A. cumulans	3	3			3	3			1	1				
A. pragensis				1	2		1		1					
A. gyllenbergii											4	1		
A. piscicola			2	2					1	1				
A. baylyi					1	1								
A. lwoffi											1	1	1	1
A. sichuanensis							2	1						
A. kooki					1	1	1	1						
A. wuhouensis					1	1			1	1				
A. parvus													1	1
A. albensis			1	1										
A. pragensis			1			2		1		1				
A. dispersus									1	1				
A. radioresistens													1	1
A. tandoii	1	1			1	1								
A. proteolyticus											1	1		
Total	42	41	11	11	50	50	37	35	29	16	188	65	40	33

486

Licence CC BY-NC-ND 4.0

487 **Table S3: *Acinetobacter* species isolated in patient's clinical environment during and after hospitalization**

Number of patient	Species isolated from patient (clone)	Sampled site	Isolated Acinetobacter species	
			During hospitalization	Post-hospitalization
1	*A. pittii* (P1)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. pittii* n=1 (P2)	*A. guillouiae* n=10 (5 G1, 3 G2, 2 G3)
		Shower trap	*A. pittii* n=1 (P2)	*A. ursingii* n=5 (1 U1, 1 U2, 3 U3)
2	*A. baumannii* (B1)	Room and medical material	0	ND
		Left common trough siphon	ND	*A. ursingii* n=3 (1 U4, 2 U5)
		Right common trough siphon	ND	0
8	*A. johnsonii* (J1)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	0	*A. ursingii* n=4 (U7)
		Shower trap	0	*A. johsonnii* n=3 (1 J2, 2 J3) *A. ursingii* n=1 (U2)
9	*A. lwoffii* (L1)	Room and medical material	*A. lwoffii* n=1 (L2)	ND
		Sink trap	*A. johnsonii* n=1 (J4)	*A. ursingii* n=5 (U9)
		Shower trap	*A. ursingii* n=1 (U8)	*A. ursingii* n=6 (U8)
10	*A. pittii* (P3)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. ursingii* n=1 (U10)	0
11	*A. baumannii* (B6)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. ursingii* n=1 (U11)	*A. ursingii* n=1 (U11)
		Shower trap	*A. johnsonii* n=1 (J5)	*A. ursingii* n=8 (U12
12	*A. guillouiae* (G4)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. junii* n=1 (Ju1)	*A. ursingii* n=3 (U14, U18, U16) *A. johnsonii* n=2 (J6)
		Shower trap	*A. ursingii* n=1 (U13)	*A. ursingii* n=2 (U15) *A. johnsonii* n=1 (J7)
17	*A. baumannii* (B8)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. johnsonii* n=8 (7 J8, 1 J9)	0
		Common shower trap	*A. johnsonii* n=9 (J10)	0
18	*A. pittii* (P4)	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	*A. pittii* n=7 (6 P4a, 1 P4b)	*A. pittii* n=5 (P4a)
19	*A. parvus*	Room and medical material	0	ND
		Sink trap	0	0
22	*A. pittii* (P1*)	Sink trap	0	0
		Common shower trap	*A. ursingii* n=3 (U1*) *A. lactucae* n=1 (L1*)	0
23	*A. radioresistens*	Sink trap	A. johnsonii n=8 (7 J1*, 1 J2*)	*A. ursingii* n=4 (U10*)
		Shower trap	*A. johnsonii* n=20 (1 J3*, 1 J4*, 2 J5*, 3 J6*, 7 J7*, 1 J8*, 2 J9*, 1 J10*, 1 J11*)	*A. gyllenbergii* n=4 (Gy1*)

Licence CC BY-NC-ND 4.0

			A. proteolyticus n=1 (Pro1*) *A. pittii* n=3 (1 P2*, 1 P3*, 1 P4*)	*A. ursingii* n=2 (1 U11*, 1 U12*)
24	*A. pittii* (P5*)	Sink trap	0	0
25	*A. pittii* (P6*)	Sink trap	0	0
		Shower trap	0	0
26	*A. ursingii* (U2*)	Sink trap	0	*A. ursingii* n=5 (4 U13a*, 1 U13b*2C)
		Shower trap	*A. lactucae* n=1 (L2*) *A. pittii* n=1 (P7*)	0
27	*A. pittii* (P8a*)	Sink trap	*A. pittii* n=2 (P8a*)	0
28	*A. pittii* (P9*	Sink trap	*A. johnsonii* n=8 (J12*) *A. ursingii* n=2 (U3*)	0
		Common shower trap	*A. ursingii* n=4 (2 U4*, 2 U5*)	*A. pittii* n=2 (P14*)
29	*A. ursingii* (U6*)	Sink trap	*A. junii* n=10 (Ju1*) *A. johnsonii* n=1 (J13*)	0
31	*A. ursingii* (U7*)	Sink trap	0	0
		Shower trap	0	0
33	*A. pittii* (P8b*)	Sink trap	*A. pittii* n=8 (2 P10a*, 6 P10b*) *A. ursingii* n=5 (U8*)	0

488

Licence CC BY-NC-ND 4.0

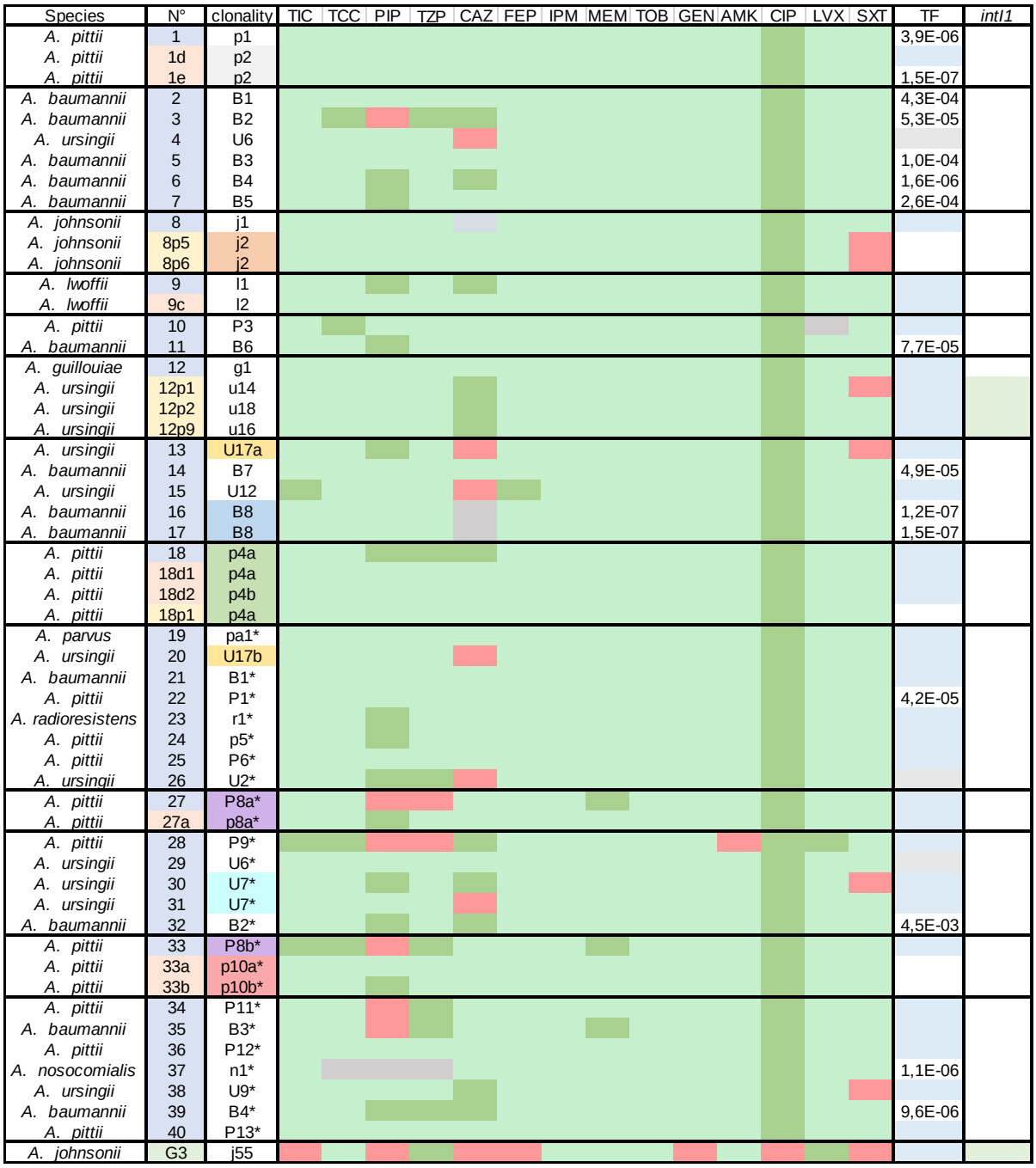


Figure S1: Clonal characteristics, susceptibility profiles, and transformation capacities of integron-carrying strains, comparing patients and environmental isolates of the same species

Strain number (N°) with color-coded origin: blue = clinical, orange = clinical environment during hospitalization, yellow = post-hospitalization environment, green = environmental waters. Clones are highlighted with the same background color. Antibiotic susceptibility: light green = susceptible (standard dose), dark green = susceptible (high dose), red = resistant, grey = undetermined. TF (transformability frequency): blue = non-transformable, grey = aggregates (not determined), white = not tested. The presence of a class 1 integron in the last column, in light green.

Antibiotic abbreviations**.** TIC: ticarcillin; TCC: ticarcillin–clavulanate; PIP: piperacillin; TZP: piperacillin–tazobactam; CAZ: ceftazidime; FEP: cefepime; IPM: imipenem; MEM: meropenem; TOB: tobramycin; GEN: gentamicin; AMK: amikacin; CIP: ciprofloxacin; LVX: levofloxacin; SXT: trimethoprim–sulfamethoxazole.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Partie 2 : Analyse génomique et phénotypique d'une épidémie à CRA*b* au CHU de Bordeaux

La caractérisation des souches de *A. baumannii* de notre collection One-Health, a mis en évidence, au sein des isolats de Bordeaux, la présence de cinq souches CRA*b* résistantes à la quasi-totalité des ATBs testés, portant un intégron de classe 2 et présentant trois profils clonaux différents en ERIC-PCR (cf. paragraphe I.5.1.). L'association entre présence d'un intégron de classe 2 et résistance aux carbapénèmes au sein de souches de *A. baumannii* n'ayant jamais été décrite en France, nous avons décidé d'approfondir l'études de ces souches.

Il s'est avéré que ces cinq souches CRA*b* étaient liées à une épidémie ayant eu lieu au sein du service de grands brûlés du CHU de Bordeaux entre mai et octobre 2023 à la suite du transfert de quatre patients venant d'Afrique de l'Ouest. Nous avons établi une collaboration avec les services de bactériologie et de prévention du risque infectieux du CHU de Bordeaux afin de documenter cette épidémie et de réaliser une caractérisation phénotypique et génotypiques d'un certain nombre d'isolats en lien avec l'épidémie.

Cette étude a mis en évidence des contaminations nosocomiales au sein du service des grands brulés dues à la persistance de certaines des souches dans l'environnement des patients. Les résultats de cette étude sont présentés ci-dessous sous la forme d'un article dont je suis premier auteur. Cet article à été proposé pour soumission dans medRxiv, plateforme de prépublication pour les sciences de la santé. La soumission sera validée suite à l'obtention d'un avis et numéro de passage au Comité d'Ethique du CHU de Limoges (démarche en cours).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Genomic and phenotypic analysis of a multi clonal outbreak of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a French University Hospital

Anne-Laure GUENIN[1] (PhD student), Camille BATAILLE[2] (PharmD), Sabine PEREYRE[3,4] (MD, PhD), Anne-Marie ROGUES[2,5] (MD, PhD), Anais POTRON[6,7] (MD, PhD), Véronique DUBOIS[3,8] (MD, PhD), Lydia MOREL-LEQUETTE[9] (MD), Laura DE LUCA[9] (MD), Elodie COUVE-DEACON[1,10#] (MD, PhD), Sandra DA RE[1#] (PhD)

Affiliations :

[1]Université de Limoges, INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, U1092, Limoges, France

[2] CHU Bordeaux, Infection control unit, Bordeaux, France

[3] CHU Bordeaux, Bacteriology, Bordeaux, France

[4] Université de Bordeaux, CNRS, UMR 5234 Fundamental Microbiology and Pathologenicity, Bordeaux, France

[5] Université de Bordeaux, Unité INSERM 1219, Population Health, Bordeaux, France

[6] Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon, France

[7]Laboratoire de Bactériologie, UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France

[8] CHU Bordeaux, Burn unit, Bordeaux, France

[9] CHU de Limoges, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Limoges, France

[#] These authors contributed equally to this work

Preliminary results from this study were presented at the biology of *Acinetobacter* conference; July 6–10, 2025, Niagara fall, New-York, USA.

Corresponding authors:

Elodie Couvé-Deacon

Email: elodie.couve-deacon@unilim.fr

Sandra Da Re

Email: Sandra.da-re@unilim.fr

Keywords: *Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii, class 2 integron, hospital outbreak*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii* (A*b*) is a multidrug-resistant opportunistic pathogen causing severe infections in immunocompromised patients. It can survive for months on clinical surfaces facilitating prolonged nosocomial outbreaks. In particular, Carbapenem-Resistant *A. baumannii* (CRA*b*) strains pose a serious healthcare threat associated with high mortality.

Objectives: This study investigates a CRA*b* outbreak in a burn unit of a French University Hospital. It aims at characterizing the spread and evolution of the isolates.

Methods: CRA*b* strains isolated from twelve patients and their clinical environment were characterized in term of clonality by ERIC-PCR and antibiotic susceptibility profile. Six isolates were selected for whole genome sequencing.

Results: All isolated strains were carbapenem-resistant and colistin-susceptible, and thus considered extensively drug-resistant. Thirteen different clones were identified among the 41 strains selected for characterization. Two clones particularly have spread among patients and in the clinical environment. Whole genome sequencing revealed the presence of a class 2 integron and numerous β-lactamases, including the *blaNDM-1* and *blaOXA-23* genes.

Conclusion: We report an outbreak of different CRA*b* clones harboring a class 2 integron, which is unusual in France. This study emphasized transmission between patients, as well as the establishment of two clones in the clinical environment on shared medical devices, which prolonged the outbreak even after thorough disinfection of the unit.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Introduction

Acinetobacter baumannii (A*b*) is a nonfermentive, Gram-negative opportunistic pathogen that is often multi-resistant, and poses a challenge to healthcare professionals worldwide as it is responsible for outbreaks of severe infections in immunocompromised patients (Peleg *et al.*, 2008; Perez *et al.*, 2007). A*b* is known for its ability to persist in the clinical environment due to its capacity to survive in biofilms on surfaces for several months, a trait associated with prolonged transmission during nosocomial outbreaks (Jawad *et al.*, 1998). In the early 2000, A*b* became a major concern in conflict zones being the main source of infections among injured soldiers (Scott *et al.*, 2004). Indeed, a study carried out in the late 2000s highlighted the predominance of A*b* infections among military patients injured during operations in Afghanistan and Iraq and hospitalized for burns, earning it the nickname "*Iraqibacter*" (Keen *et al.*, 2010). In fact, multi-resistant strains of A*b* have spread to civilian hospitals partly through cross-transmission from soldiers repatriated from war zones (Peleg *et al.*, 2008). Currently, highly antibiotic resistant A*b* strains, and more specifically Carbapenem-Resistant *Ab* (CRA*b*), represent a serious threat, causing infections particularly difficult to treat and associated with high mortality rates (Isler *et al.*, 2018). In fact, the World Health Organization (WHO) has categorized CRA*b* as a priority 1 pathogen, highlighting the urgent need for new antibiotics and treatment strategies (« WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024). Clinical A*b* isolates usually belong to one of the three main global clones 1, 2 and 3 (GC1, GC2 and GC3) (Diancourt *et al.*, 2010; Hamidian & Hall, 2018; van Dessel *et al.*, 2004) and multidrug-resistant A*b* infections are mainly caused by strains from GC1 or GC2.

The proportion of CRA*b* in infections varies greatly depending on the region of the world, ranging from less than 1% in North America to more than 80% in some African countries (Ma & Mcclean, 2021). In France, the epidemiology of CRA*b* is characterised by the predominance of the presence of bla_{OXA-23} and nosocomial outbreaks mainly involving GC2 and GC1 clones. Cases are mainly reported in intensive care and reanimation units, where cross-transmission promotes dissemination. Strains carrying bla_{NDM-1} gene have also been identified, particularly when introduced by patients transferred from abroad (Decousser *et al.*, 2013; Djahmi *et al.*, 2014).

In this study we investigated a nosocomial outbreak, caused by CRA*b*, which took place in a burn unit at a French University Hospital. The aim of this study was to describe the outbreak and to characterize the bacterial isolates.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Material and methods

Setting

The burn center of the Bordeaux University Hospital includes the burn intensive care unit (BICU) (eight beds), the continuous care unit (CCU) (eight beds) and two operating rooms. The BICU and the CCU have shared healthcare workers. The outbreak occurred from May to November 2023.

Case definition

Infection case was defined as any patient with a CRA*b* isolated from a clinical sample, associated with symptoms. Colonization case was defined as any patient with a CRA*b* isolated from a screening or clinical sample without symptoms. Carriage case was defined as any patient with a CRA*b* infection or colonization.

Microbiological investigation

All hospitalized patients in the burn center were screened – rectal and throat samplings – for CR*Ab* and Carbapenemase producing *Enterobacterales* (CPE) upon admission, twice a week during hospitalization, and before transfer to another unit. After transfer, patient underwent 2 post exposure CR*Ab* screening. The screening strategy started from the first cases admission on the 7th of May 2023, throughout the outbreak, with a follow up of 6 months after the end of the outbreak until the 1rst of April 2024.

Environmental reservoirs investigations consisted of several environmental sampling campaigns. Samples included contact plates and surface swabs collected from medical devices and patient's clinical environment. Airborne microbial contamination samples, surface samples (swabs and contact agar) and contact samples from the room's return air filters were collected.

CRAb isolation and identification

Screening samples were cultured on BLSE agar (bioMérieux) and incubated aerobically at 35°C for 24 hours. Contact plates were incubated at 36°C for 7 days. Suspect colonies were identified using MALDI-TOF MS (Bruker). CRA*b* isolates from routine clinical samples were identified similarly in the hospital's bacteriology laboratory.

Antimicrobial susceptibility testing

Antimicrobial susceptibility test was performed using the disc-diffusion method and interpreted according to the CA-SFM 2019 (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) guidelines. We tested ticarcillin (TIC), ticarcillin/ clavulanic acid (TCC), piperacillin (PIP), piperacillin/ tazobactam (TZP), cefepime (FEP), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), imipenem (IPM), ciprofloxacin (CIP), amikacin (AMK), gentamicin (GEN), tobramycin (TOB), trimethoprim/ sulfamethoxazole (SXT), trimethoprim (TMP), tetracycline (TET), and chloramphenicol (CHL). Furthermore colistin (COL) susceptibility was tested using

Licence CC BY-NC-ND 4.0

the liquid microdilution method for selected strains and MIC values were interpreted according CA-SFM 2024 recommendation.

Integron characterization

Class 1, 2 and 3 integron were detected using a quantitative multiplex real-time PCR according to (Barraud *et al.*, 2010) method.

Class 2 integron were amplified using the CAL-2L and CAL-2R primers in 50 µL reaction mixture using the PrimeSTAR® Max DNA Polymerase 2X (Takarabio). The gene cassettes network of integrons was sequenced using SANGER method with specific primers described in **Table S1** and the sequences were annotated and compared using online BLAST software (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

ERIC-PCR typing

The A*b* strains genotyping was performed using the *Enterobacterales* Repetitive Intergenic Consensus PCR (ERIC-PCR) with primers ERIC-1, ERIC-2 and VL1 (**Table S1**). The amplifications were carried out in 50 µl volumes using the OneTaq Master Mix (New England, Biolabs).The amplification reaction was performed in the Eppendorf™ Mastercycler™ thermocycler using an initial denaturation step at 94°C for 5 min, 36 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 39°C or 32°C, for ERIC-1/ERIC-2 or VL1 respectively, for 30 sec and extension at 68°C for 6 min and a final extension step at 68°C for 5 min. PCR products were analyzed in 0.8% agarose in 0.5X Tris-Borate-EDTA. Clonal profiles were interpreted visually: an identical bands profile was considered as a clone; one to three bands of difference as a sub-type of the same clone, and a difference of more than 3 bands as two distinct clones (Ying *et al.*, 2015).

Whole genome sequencing

Isolates genomic DNA were extracted using the Bacterial DNA Extraction kit SaMag (Sacace Biotechnologies) and bacterial genome sequencing was performed by Plasmidsaurus using Oxford Nanopore Technology with custom analysis and annotation.

Sequence were then analyzed using the Galaxy platform (The Galaxy Community, 2024).

AMRFinderPlus, staramr and ABRIcate tools were used to detect antibiotic resistance genes (Bharat *et al.*, 2022; Feldgarden *et al.*, 2021; Seemann, 2016). The sequence type (ST) of each strain was determined using the MLST tool (Seemann, Stroehlein, et Da Silva., 2016).

Data collection

Data from the microbiology laboratory and patient record were collected by the Infection Prevention and Control (IPC) team, which conducted both the investigation and the management of the outbreak.

Outbreak investigation and control measures

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Due to the patient's condition, they were hospitalized in single room and unit staff wore plastic gown for all contact. Additional contact precaution maintained up to 6 months after the outbreak ended. These included dedicated medical device whenever possible (some shared equipment remained such as ventral decubitus mattresses, physiotherapy equipment or normothermia air blower unit), cohorting of carriers with dedicated staff day and night and a dedicated operating room for colonized patients. At times, new admissions were suspended to maintain adequate staff to patient ratio and burn wound care was performed in patient room during temporary closure of operating theatre.

To control environmental contamination several measures were implemented. In May and June, patient bedroom underwent daily thorough cleaning, as well as replacement of the room air return filter in all the ventilated rooms. In July, rooms were disinfected twice daily (Surfanios®/ Surfasafe®, Anios) and terminal cleaning was performed by two professionals using bio-cleaning and steam clean. In august, the burn center was closed for one weekend to conduct an extensive bio-cleaning associated with steam cleaning of all area, including storage place and sink trap bleaching. A second comprehensive cleaning and aerial surface disinfection were performed in December after another burn center temporary closure.

IPC team supported the burn unit staff through regular team meeting to guide decisions, conduct risk assessment on shared medical devices implemented for each case from patient 9.

Results

Outbreak description

Between May and November 2023, the burn unit of Bordeaux University Hospital experienced a CRA*b* outbreak involving twelve patients (P1-P12) including nine infected and three colonized patients. The mean patient age was 44 years (range 21-73) and the mean length of stay was 27 days (range 3-85). Four patients died during the outbreak; two deaths being directly attributable to CRA*b* infection. The outbreak began following the admission in the BICU of four repatriated patients from West Africa (P1, P2, P4 and P5) with severe injuries.

The epidemiological timeline of the outbreak is summarized in a synoptic table (**Figure 1**). P1 and P2 were identified as CRA*b* carriers upon admission (day 0); both developed infections and P2 died from his injuries on day 2. After the disinfection of P2's room, P3 was admitted (day 5) and tested positive for CRA*b* rectal carriage within 12 hours. P3 was then transferred in the CCU, where subsequent rectal and oral screenings were negative, but he was again identified as a carrier on day 23, five days after discharge to a rehabilitation and care unit.

On day 7, P4 and P5 were tested positive for CRA*b* upon admission in BICU. Concurrently, P6, already in room F of the BICU, developed a CRA*b* infection. Following these new cases, additional contact precaution measures were implemented for all patients in both the BICU and

Licence CC BY-NC-ND 4.0

CCU. Subsequently, P4 and P5 developed infections and P7, already in the CCU, was identified as CRA*b* carrier.

On day 16, an environmental sampling campaign was conducted revealing positive CRA*b* contamination, and a first comprehensive cleaning protocol of the burn unit was organized. On day 20, P8 was transferred to room F, previously occupied by P6, and was identified as CRA*b* carrier on day 36. On day 47, surface samples were collected from equipment shared by patients, which revealed contamination of a ventral decubitus mattress previously used with P1.

P9, admitted to the BICU on day 60, developed a CRA*b* bacteremia 3 days later and died on day 66. This new case occurred without any known contact with another carrier, prompting a new environmental sampling campaign. CRAb was detected on a surface sample from the blood pressure monitoring equipment (PiCCO plus™, Getinge) stored in the emergency bag, and on the normothermia device (Bair Hugger™, 3M) previously used for P1. Following the death of P9, the BICU was vacated and closed for a comprehensive disinfection process. Despite these measures, three new cases were identified on days 99, 144 and 164 (P10 to P12 respectively). P10 developed a catheter-associated bacteremia and passed away on day 130. P11 was admitted in the BICU room previously occupied by P6, P5, and P2, while P12 was admitted to the CCU room previously occupied by P7. Cross transmission to P11 and P12 via the respirator screen tested positive for CRA*b* on day 171 was suspected. No further cases were identified in the subsequent months.

A total of 52 CRAb isolates were collected from hospitalized patients (n=42) and their clinical environment (n=11) over a 6-months period from 7 May to 26 October 2023.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

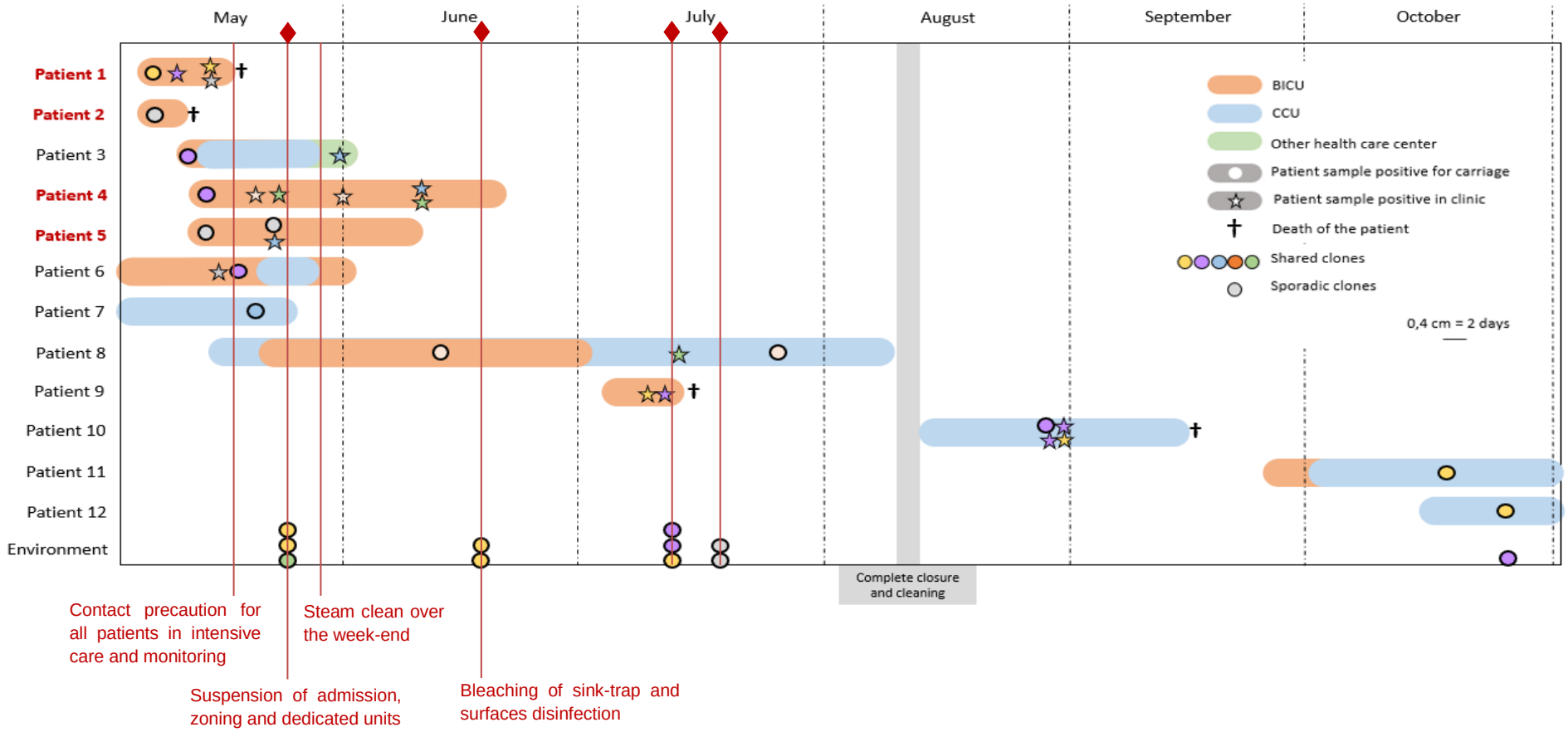


Figure 1: Synoptic table of the outbreak

For each patient, the length of stay, the room and the hospital ward (BICU in orange, CCU in blue, and other centers in green) are indicated. Strains isolated during carrier sampling are indicated by a circle and strains isolated during clinical sampling by a star. The colors of the strains (circles and stars) indicate the clonality of the strain, with C1 in yellow, C6 in purple, C2 in blue, C3 in orange, C8 in green and sporadic clones in grey. A cross indicates the patient's death.

In the environment, the red diamonds and bars indicate environmental sampling campaigns with isolated strains (colored circles). Finally, the grey area in August indicates the complete closure of the unit for disinfection.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Strains selection and characterization

The synoptic table of the outbreak strongly indicated strains transmission between repatriated and local patients, as well as environment colonization (**Figure 1**). To investigate cross-contamination and strain dissemination we selected, for characterization, the isolates obtained from clinical samples rather than rectal or oral swabs. Whenever possible, both the first and last patient isolates, as well as those recovered from their environment were included. This resulted in the selection of 30 isolates recovered from 12 patients (9 men and 3 women), along with all isolates recovered from clinical environment (n=11) (**Table 1**).

Clonality was first assessed by ERIC-PCR (EP), which identified 12 distinct EP profiles among the 41 isolates, to which we will refer to as clones C1 to C12, each assigned with a color (**Figure 1; Table 1**). Seven clones (C2 to C5, C7, C9 and C11) were found exclusively in patients, three clones (C1, C6 and C8) in both patients and clinical environment, and two clones (C11 and C12) only in clinical environment. These findings suggest that clones C1, C6 and C8 were the main ones to spread from patients to their environment.

Eight patients carried multiple CRA*b* clone: five (P3, P6, P8, P9 and P10) harbored two clones, with C6 common to all except P8; two patients (P1 and P5) carried three clones; and P4 carried four (**Table 1**). Clones C4, C5, C7, C9, C10, C11 and C12 (grey) were isolated only once: C11 and C12 from environmental samples, and the others from patients P6, P2, P1 and P5 respectively. Clones C2 (blue) and C3 (orange) were repeatedly isolated from patients' samples and showed sub-types: C2a in P4 and P7, C2b in P3 and P5, C3a/C3b in P4 and P8 (**Table 2**). Among the clones detected in both patients and clinical environment samples, four isolates of C8 (green) were identified (three from patients P4, P8 and P9 and one environmental); eleven isolates of C1 (yellow) (six from patients P1, P9, P10, P11 and P12, and five environmental (C1, 2, 3, 4, 10)); and eleven isolates of C6 (purple) (eight from patients P1, P3, P4, P6, P9 and P10, and three environmental (C5, 6, 11)) (**Table 1**).

Although some strains showed minor variations in their antibiotic susceptibility profile, all were multi-drug resistant, carbapenem-resistant, and colistin-sensitive; there were thus considered as eXtremely Drug Resistant (XDR) (**Table 1; Figure S1**). Interestingly, some strains belonging to a same clone had different susceptibility profile (**Table 2**), suggesting that these strains evolved within or outside the patient.

Genomic description of the strains

Among the 41 strains characterized, 10 patient's and 2 environmental strains, selected on the basis of their clonality by ERIC-PCR and their antibiotics susceptibility profile, were submitted to whole genome sequencing **(Table 2)**.

Genome analysis revealed that nine strains, although exhibiting distinct EP profiles (C1, C2, C3, C6, C7 C8, C10, C11 and C12), belonged to ST1/ST231 (Pasteur and Oxford scheme

Licence CC BY-NC-ND 4.0

respectively), two strains (representing C4 and C9) belonged to ST107/ST1552 while strain 402 (C5) belonged to ST52/ST2476 (Table 2). ST1 strains had the larger chromosome (between 4.0 and 4.05 Mb), ST107 strains the smallest (3.82 Mbp) (Table 2).

All the ST1 strains carried a 8.7 Kbp plasmid and all but one (strain 397) also carried a 6 Kbp, strains 131 and 384 sharing a third larger plasmid (66.3 Kbp) and strain 397 carrying also a very large plasmid of 109.3 Kbp (**Table 2**). As for ST107 strains (125 and 413), they carried the same four plasmids ranging from 1.9 to 35.2 kpb, and strain 402 (ST52) carried two plasmids (10.6 and 97.2 Kpb) (**Table 2**). Except for the two plasmids carried by ST107 strains and the large plasmid of ST 52 strain, none of the plasmids carried antibiotic resistance genes.

Table 2: Genome analysis of the sequenced strains

Strain N°	124	398	405	131	384	409	414	396	397	125	413	402
Isolated from	P1	P1	P1	P3	P4	P4	P5	environment	environment	P6	P5	P2
ERIC-PCR profile	1	6	7	2	3	8	10	11	12	4	9	5
ST (pasteur scheme)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	107	107	52
Genome (Mb)	4.05	4.05	4.05	4.05	4.10	4.00	4.00	4.05	4.01	3.82	3.83	3.93
Plasmid 1 (bp)	8 731	8 731	8 731	8 731	8 731	8 731	8 731	8 731	8 731			
Plasmid 2 (bp)	6 078	6 078	6 078	6 078	6 078	6 078	6 078	6 078				
Plasmid 3 (bp)				66 335	66 335							
Plasmid 4 (bp)									109 350			
Plasmid 5 (bp)										35 322	35 322	
Plasmid 6 (bp)										11 060	11 060	
Plasmid 7 (bp)										8 215	8 215	
Plasmid 8 (bp)										1 977	1 977	
Plasmid 9 (bp)												97 243
Plasmid 10 (bp)												10 637
Number of plasmids	2	2	2	3	3	2	2	2	2	4	4	2

Resistance genes and integron characterization

A total of twenty ARGs were identified using AMRFinderPlus, staramr and ABRIcate across the 12 strains, ranging from eleven to nineteen ARGs per strain with some genes found twice in the same strain (**Figure S2)**. We identified a number of genes encoding β-lactamases, including carbapenem resistance genes, such as *bla*$_{NDM-1}$, *bla*$_{OXA-23}$ and *bla*$_{OXA-69}$ (**Figure 3)**. All the carbapenem resistance genes were found in the chromosome, except for the *bla*$_{OXA-23}$ gene, which was identified on the 8.2 Kbp plasmids carried by ST107 (**Table 2**). Unlike the ST1 strains which carry both the *bla*$_{OXA-23}$ or *bla*$_{NDM-1}$ gene, the two ST107 strains only carried the *bla*$_{OXA-23}$ gene, while the ST52 strain carried only the *bla*$_{NDM-1}$ gene (**Figure 3**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

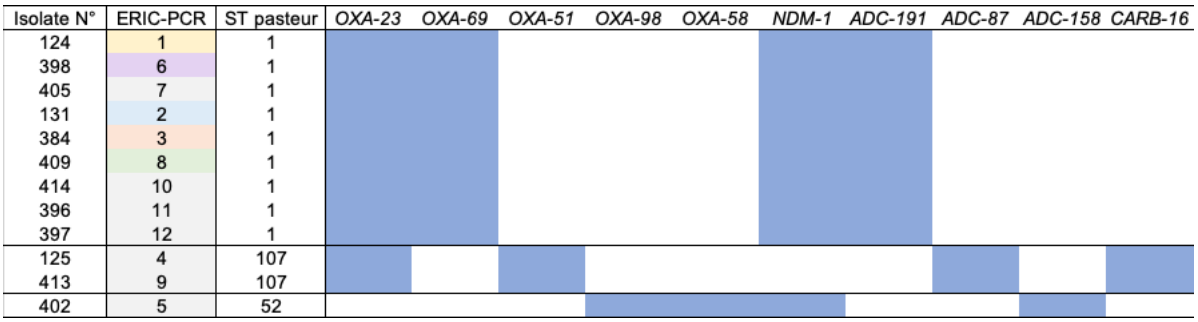


Figure 3: Carbapenem resistance genes present in the sequenced strains

The presence of the different carbapenem resistance genes identified using AMRFinderPlus, staramr and ABRIcate within the genome of the sequenced strains is shown in blue. The color variation represents the number of times the gene has been identified within the bacterial genome (light blue = 0 to dark blue = 2).

With the exception of strain 402 (C5, ST52), all the sequenced strains carried a class 2 integron that displayed the gene cassettes array usually found in class 2 integron (*dfrA1-sat2-aadA1* encoding resistance to trimethoprim, streptothricin/streptomycin and spectinomycin respectively) (Ramírez *et al.*, 2012). ST1 strains had two chromosomal copies of the integron embedded as usual within a *Tn7* transposon (Hansson *et al.*, 2002), whereas in ST107 strains, it was carried on the 35.3 Kbp plasmid associated with the *blaP* gene within an insertion sequence (IS). As integrons are associated to MDR phenotypes, we screened the remaining 29 strains for the presence of class 1, 2 and 3 integrons; they all harbored a class 2 integron (Table 1). We did not find class 1 or class 3 integron.

Discussion

We report a severe CRAb outbreak in a burn unit following the repatriation of patients from West Africa. They were carriers not only of CRA*b* but also of carbapenemase-producing enterobacteria (CPE). CPE strains did not spread within the unit suggesting that the implemented contact precautions were sufficient to prevent CPE dissemination. In contrast, controlling the *CRAb* outbreak transmission proved particularly challenging, resulting in significant morbidity and mortality among these particularly fragile burn patients. This report highlights the persistent threat of CRA*b* in high dependency units such as burn centers, where invasive procedure, heavy antimicrobial use and complex medical devices favor its survival. Despite extensive infection control measures, this outbreak could only be controlled after thorough environmental colonization decontamination.

The phenotypic and genomic analysis of 41 CRA*b* strains, selected from 52 isolates obtained from 12 patients (carriers and/or infected) and their clinical environment (operating room, physiotherapy equipment, …) indicated the spread of clonal strains between patients and their environment. To trace this dissemination at the clonal level, we established the EP profile of

Licence CC BY-NC-ND 4.0

the 41 CRA*b* isolates, and performed a MLST analysis on one strain representative of each identified EP profiles. Surprisingly, although we identified 12 EP profiles (or clones), 10 found in patients (C1 to C10) and 2 found only in the patient environment (C11 and C12), MLST analysis identified only three different STs: ST1 according to the Pasteur scheme including clones C1, C2b, C3, C6, C7, C8, C10, C11and C12 (strains 124, 131, 384, 398, 405, 409, 414, 396 and 397 respectively), ST107 with C4 and C9 (strains 125 and 413), and ST52 for C5 (strain 402). ST1 belong to the GC1, a globally distributed clonal complex associated with antibiotic resistance (Koong et al., 2025). Moreover, ST1 strains often carry resistance islands and genetic elements such as integrons (Leal *et al.*, 2020; Lowe *et al.*, 2022). The prevalence of ST52 is less documented but it has been reported in several regions, particularly in Europe, Asia and South America, often in resistant strains carrying carbapenemase genes such as $bla_{OXA\text{-}23}$. ST52 mainly spreads in hospitals and contributes to multidrug-resistant nosocomial infections, although it is less prevalent than other clones. (Ajoseh *et al.*, 2025; Ha *et al.*, 2024; Wareth *et al.*, 2019). Finally, the ST107, recently characterized, is not among the most widespread STs but contributes to genetic diversity and antibiotic resistance dissemination in *Acinetobacter spp*. Indeed, ST107 is linked to resistance to multiple antibiotics including carbapenem, aminoglycosides, fluoroquinolones and colistin (Ayibieke *et al.*, 2020)

Among the 12 clones (EP profiles), clones C1, C2a/C2b, C3 and C6 were found in multiple patients and timeline indicated transmission between repatriated (P1, P2, P4, P5) and local patients. C1 may have been transmitted from P1 to P9, P10, P11 and P12; C2b from P5 to P3; C3 and C8 from P4 to P8, and finally C6 from P1 and/or P4 to P3, P6, P9 and P10 (Figure 1 and Table 1). This healthcare associated transmission may have occurred via healthcare professionals, but environmental transmission was also very likely through contaminated medical equipment. Burn patients frequently require intensive care, and emergency situations can lead to IPC practices deviations. Extensive wound dressings, exudates and splashes are frequent and increase contact transmission. Additionally, the investigation identified complex shared medical devices in contact with patients – such as ventilation assistance, physiotherapy equipment, prone-positioning mattresses – that were very difficult to decontaminate due to cracks and crevices. These devices, commonly used in ICU and burn units, represent specific indirect contact transmission risks when colonized with CR*Ab* strains capable of environmental implantation. Indeed, these devices were colonized with C1, C6 and C8. Interestingly among the 12 clones, only C1 and C6 persisted in the clinical environment. The environmental persistence ability of C1 and C6 over C2b and C11 does not seem related to the two identical plasmids they shared. C1 and C6 were first isolated from repatriated patient in May. They were also the most frequently isolated from clinical environment samples, and the ones isolated from the patients infected later in October after the burn unit closure and extensive cleaning in mid-

Licence CC BY-NC-ND 4.0

august. The persistence of C1 and C6 clones despite extensive disinfection suggests a biofilm-mediated survival strategy. *A. baumannii*'s capacity to form resilient biofilms on plastic and metal surfaces may explain why certain clones persisted and recolonized after cleaning. This illustrates the adaptability and persistence of A*b* in clinical environments and its ability to transmit from the environment back to patients. Our findings suggest a specific environmental mode of dissemination and transmission for CRA*b* that need to be addressed when managing such an outbreak – particularly, targeted biofilm disruption protocols and careful material selection for medical equipment.

Genome analysis of the 12 selected strains revealed the presence of a class 2 integron with the typical *dfrA1-sat2-aadA1* gene cassettes array (Ramírez *et al.*, 2012) in the representative strains of 11 clones (and all the strains belonging to these clones). The presence of this class 2 integron in all the non-sequenced strains was confirmed by qPCR. Integrons, of which 3 main classes in clinical setting exist, are genetic elements able to acquire, stockpiles and express ARGs within gene cassettes (Hall et al., 1999) and their presence is associated to MDR. Compared to class 1 integron, class 2 integron are rare in *Acinetobacter* representing only 5% entries in the Integrall database (integrall, 06 august 2025). Class 2 integron in A*b* have mainly been reported in MDR clinical strains from South American countries (Argentina, Brazil, Chile), few cases being described in Europe (Fonseca *et al.*, 2011; Gonzalez *et al.*, 1998; Koeleman *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2010; Turton *et al.*, 2005). This study provides the first report of class 2 integron in CRA*b* strains in France. The importation of diverse CRA*b* clones from West Africa via repatriated patient also raises concern about the global movement of resistance determinants through medical evacuation or patient transfers.

Except for ST107 strains, the class 2 integron was inserted within the *Tn7* transposon located in the chromosome, consistent with previous studies showing that class 2 integrons are often embedded in the *Tn7* integrated in the chromosomes ensuring their stability and mobility (Hansson *et al.*, 2002; Parks & Peters, 2009). In the ST57 strains however, the integron was carried on a plasmid associated with an IS potentially enhancing its mobility and thus the dissemination of the resistance. Genome analysis also revealed that not only class 2 integron dissemination may be favored. Indeed, the bla_{NDM-1} gene was found to be flanked by *ISAba125* within the composite transposon *Tn125*, a conformation previously described. The presence of ISAba125 is actually considered crucial for the mobilization and expression of the bla_{NDM-1} gene among *Acinetobacter spp*. (Lopes & Amyes, 2012; Poirel *et al.*, 2012). In our ST1 strains, the bla_{OXA-23} gene was associated with ISaba1, this IS element is the most frequently linked to bla_{OXA-23}, and plays key role in its mobilization and overexpression, leading to increased carbapenem MIC (Turton *et al.*, 2006; Yazdansetad *et al.*, 2019).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

In conclusion, we report an outbreak transmission of multiple CRA*b* clones harboring a class 2 integron – an uncommon finding in France. Transmission occurred, after admission of repatriated soldiers from West Africa carrying different CRA*b* clones. This emphasizes the need for international coordination and genomic surveillance to monitor cross-border dissemination of XDR pathogens, especially for transferred or repatriated patients. The outbreak clones disseminated to local patients, with two clones (C1 and C6) establishing persistence in the clinical environment on shared medical devices, thereby prolonging the outbreak. Future investigations should focus on understanding the genetic determinants of environmental persistence and biofilm formation in CRAb, as well as evaluating the effectiveness of novel decontamination strategies. This report also demonstrates the benefits of case-by-case analysis: systematic investigation of shared equipment and identification of maintenance flaws in complex equipment for each new case enabling adaptation of the control measures as the outbreak evolved and, ultimately, control the transmission. This study also highlights the crucial role of molecular typing and genetic analysis for nosocomial outbreak investigations and for tracking bacteria. It could help track Ab clones within-host evolution and microevolutionary events leading to persistence.

Acknowledgments:

We thank T. Stalder for his comments on the manuscript and helpful discussions.

Fundings :

This work was supported by grants from the Région Nouvelle-Aquitaine, the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm) and the University Hospital of Limoges. ALG gratefully acknowledges the Région Nouvelle-Aquitaine for her doctoral training grant. The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Author contributions:

Designed experiments: AL.G., E.CD., S.DR. Performed the experiments and data analysis: AL.G., E.CD., S.DR.; A.P. Collected patient and outbreak management data: C.B, AM.R., L.M.L, L.D.F. Collected the outbreak strains: S.P., V.D. Wrote the manuscript: AL.G., E.CD., S.DR., A.P. All authors commented on previous versions of the manuscript. Revised and edited the manuscript: AL.G., E.CD., S.DR

Declaration of interests:

Licence CC BY-NC-ND 4.0

412 The authors declare no competing interests.
413
414 ## References

415 Ajoseh, S. O., Anjorin, A.-A. A., Salami, W. O., Brangsch, H., Neubauer, H., Wareth, G., &
416 Akinyemi, K. O. (2025). Comprehensive molecular epidemiology of Acinetobacter
417 baumannii from diverse sources in Nigeria. *BMC Microbiology*, *25*, 178.
418 https://doi.org/10.1186/s12866-025-03917-5

419 Ayibieke, A., Kobayashi, A., Suzuki, M., Sato, W., Mahazu, S., Prah, I., Mizoguchi, M., Moriya,
420 K., Hayashi, T., Suzuki, T., Iwanaga, S., Ablordey, A., & Saito, R. (2020). Prevalence
421 and Characterization of Carbapenem-Hydrolyzing Class D β-Lactamase-Producing
422 Acinetobacter Isolates From Ghana. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 587398.
423 https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.587398

424 Barraud, O., Baclet, M., Denis, F., & Ploy, M.-C. (2010). Quantitative multiplex real-time PCR
425 for detecting class 1, 2 and 3 integrons. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*,
426 *65*, 1642-1645. https://doi.org/10.1093/jac/dkq167

427 Bharat, A., Petkau, A., Avery, B. P., Chen, J. C., Folster, J. P., Carson, C. A., Kearney, A.,
428 Nadon, C., Mabon, P., Thiessen, J., Alexander, D. C., Allen, V., El Bailey, S., Bekal,
429 S., German, G. J., Haldane, D., Hoang, L., Chui, L., Minion, J., … Mulvey, M. R. (2022).
430 Correlation between Phenotypic and In Silico Detection of Antimicrobial Resistance in
431 Salmonella enterica in Canada Using Staramr. *Microorganisms*, *10*(2), 292.
432 https://doi.org/10.3390/microorganisms10020292

433 Clímaco, E. C., Oliveira, M. L. de, Pitondo-Silva, A., Oliveira, M. G., Medeiros, M., Lincopan,
434 N., & da Costa Darini, A. L. (2013). Clonal complexes 104, 109 and 113 playing a major
435 role in the dissemination of OXA-carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*
436 in Southeast Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, *19*, 127-133.
437 https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.024

438 Couvé-Deacon, E., Jové, T., Afouda, P., Barraud, O., Tilloy, V., Scaon, E., Hervé, B., Burucoa,
439 C., Kempf, M., Marcos, J. Y., Ploy, M.-C., & Garnier, F. (2019). Class 1 integrons in
440 Acinetobacter baumannii : A weak expression of gene cassettes to counterbalance the
441 lack of LexA-driven integrase repression. *International Journal of Antimicrobial Agents*,
442 *53*(4), 491-499. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.11.012

443 Decousser, J. W., Jansen, C., Nordmann, P., Emirian, A., Bonnin, R. A., Anais, L., Merle, J.
444 C., & Poirel, L. (2013). Outbreak of NDM-1-producing Acinetobacter baumannii in
445 France, January to May 2013. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin, *18*(31), 20547. https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20547

Djahmi, N., Dunyach-Remy, C., Pantel, A., Dekhil, M., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2014). Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii in Mediterranean Countries. *BioMed Research International*, *2014*, 305784. https://doi.org/10.1155/2014/305784

Feldgarden, M., Brover, V., Gonzalez-Escalona, N., Frye, J. G., Haendiges, J., Haft, D. H., Hoffmann, M., Pettengill, J. B., Prasad, A. B., Tillman, G. E., Tyson, G. H., & Klimke, W. (2021). AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Scientific Reports*, *11*(1), 12728. https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0

Fling, M. E., & Richards, C. (1983). The nucleotide sequence of the trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase gene harbored by Tn7. *Nucleic Acids Research*, *11*(15), 5147-5158.

Fonseca, É. L., Freitas, F. dos S., Scheidegger, É. M. D., Jacinto, T., & Vicente, A. C. P. (2011). Class 2 integrons in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii circulating in different Brazilian geographic regions. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *38*(1), 95-96. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.03.013

Gonzalez, G., Sossa, K., Bello, H., Dominguez, M., Mella, S., & Zemelman, R. (1998). Presence of integrons in isolates of different biotypes of *Acinetobacter baumannii* from Chilean hospitals. *FEMS Microbiology Letters*, *161*(1), 125-128. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00060-3

Ha, V. N., Huy, H. T., Đac, T. N., Nguyen, P. A., & Cuong, L. D. (2024). Genomic epidemiology and resistant genes of Acinetobacter baumannii clinical strains in Vietnamese hospitals. *Journal of Medical Microbiology*, *73*(10), 001922. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001922

Hansson, K., Sundström, L., Pelletier, A., & Roy, P. H. (2002). IntI2 Integron Integrase in Tn7. *Journal of Bacteriology*, *184*(6), 1712-1721. https://doi.org/10.1128/jb.184.6.1712-1721.2002

Imperi, F., Antunes, L. C. S., Blom, J., Villa, L., Iacono, M., Visca, P., & Carattoli, A. (2011). The genomics of Acinetobacter baumannii : Insights into genome plasticity, antimicrobial resistance and pathogenicity. *IUBMB Life*, *63*(12), 1068-1074. https://doi.org/10.1002/iub.531

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Isler, B., Doi, Y., Bonomo, R. A., & Paterson, D. L. (2018). New Treatment Options against Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *63*(1), 10.1128/aac.01110-18. https://doi.org/10.1128/aac.01110-18

Jawad, A., Seifert, H., Snelling, A. M., Heritage, J., & Hawkey, P. M. (1998). Survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces : Comparison of outbreak and sporadic isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, *36*(7), 1938-1941. https://doi.org/10.1128/JCM.36.7.1938-1941.1998

Keen, E. F., Robinson, B. J., Hospenthal, D. R., Aldous, W. K., Wolf, S. E., Chung, K. K., & Murray, C. K. (2010). Incidence and bacteriology of burn infections at a military burn center. *Burns*, *36*(4), 461-468. https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.10.012

Koeleman, J. G. M., Stoof, J., Van Der Bijl, M. W., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., & Savelkoul, P. H. M. (2001). Identification of Epidemic Strains of Acinetobacter baumannii by Integrase Gene PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(1), 8-13. https://doi.org/10.1128/JCM.39.1.8-13.2001

Leal, N. C., Campos, T. L., Rezende, A. M., Docena, C., Mendes-Marques, C. L., de Sá Cavalcanti, F. L., Wallau, G. L., Rocha, I. V., Cavalcanti, C. L. B., Veras, D. L., Alves, L. R., Andrade-Figueiredo, M., de Barros, M. P. S., de Almeida, A. M. P., de Morais, M. M. C., Leal-Balbino, T. C., Xavier, D. E., & de-Melo-Neto, O. P. (2020). Comparative Genomics of Acinetobacter baumannii Clinical Strains From Brazil Reveals Polyclonal Dissemination and Selective Exchange of Mobile Genetic Elements Associated With Resistance Genes. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01176

Lopes, B. S., & Amyes, S. G. B. (2012). Role of ISAba1 and ISAba125 in governing the expression of blaADC in clinically relevant Acinetobacter baumannii strains resistant to cephalosporins. *Journal of Medical Microbiology*, *61*(Pt 8), 1103-1108. https://doi.org/10.1099/jmm.0.044156-0

Lowe, M., Singh-Moodley, A., Ismail, H., Thomas, T., Chibabhai, V., Nana, T., Lowman, W., Ismail, A., Chan, W. Y., & Perovic, O. (2022). Molecular characterisation of Acinetobacter baumannii isolates from bloodstream infections in a tertiary-level hospital in South Africa. *Frontiers in Microbiology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.863129

Ma, C., & Mcclean, S. (2021). Mapping Global Prevalence of Acinetobacter baumannii and Recent Vaccine Development to Tackle It. *Vaccines*, *9*, 570. https://doi.org/10.3390/vaccines9060570

Licence CC BY-NC-ND 4.0

513 Müller, C., Reuter, S., Wille, J., Xanthopoulou, K., Stefanik, D., Grundmann, H., Higgins, P. G.,
514 & Seifert, H. (2023). A global view on carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii.
515 *MBio*, *14*(6), e0226023. https://doi.org/10.1128/mbio.02260-23

516 Parks, A. R., & Peters, J. E. (2009). Tn7 elements : Engendering diversity from chromosomes
517 to episomes. *Plasmid*, *61*(1), 1-14. https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2008.09.008

518 Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). Acinetobacter baumannii : Emergence of a
519 successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, *21*(3), 538-582.
520 https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07

521 Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. (2007).
522 Global Challenge of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii. *Antimicrobial*
523 *Agents and Chemotherapy*, *51*(10), 3471-3484. https://doi.org/10.1128/AAC.01464-06

524 Poirel, L., Bonnin, R. A., Boulanger, A., Schrenzel, J., Kaase, M., & Nordmann, P. (2012).
525 Tn125-Related Acquisition of blaNDM-Like Genes in Acinetobacter baumannii.
526 *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *56*(2), 1087-1089.
527 https://doi.org/10.1128/AAC.05620-11

528 Queenan, A. M., & Bush, K. (2007). Carbapenemases : The versatile β-lactamases. *Clinical*
529 *Microbiology Reviews*, *20*(3), 440-458. Scopus. https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07

530 Ramírez, M. S., Morales, A., Vilacoba, E., Márquez, C., & Centrón, D. (2012). Class 2
531 Integrons Dissemination Among Multidrug Resistance (MDR) Clones of Acinetobacter
532 baumannii. *Current microbiology*, *64*(3), 290-293. https://doi.org/10.1007/s00284-011-
533 0068-1

534 Ramírez, M. S., Piñeiro, S., & Centrón, D. (2010). Novel Insights about Class 2 Integrons from
535 Experimental and Genomic Epidemiology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,
536 *54*(2), 699-706. https://doi.org/10.1128/AAC.01392-08

537 Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug*
538 *Resistance Updates*, *13*(6), 151-171. https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.08.003

539 Scott, P., Petersen, K., Fishbain, M., Craft, D., Ewell, A., Moran, K., Hack, D., Deye, G., Riddell,
540 S., Christopher, G., Mancuso, J., Petruccelli, B., Endy, T., Lindler, L., Davis, K.,
541 Milstrey, E., Brosch, L., Pool, J., Blankenship, C., & Srinivasan, A. (2004).
542 Acinetobacter baumannii infections among patients at military medical facilities treating
543 injured U.S. Service members, 2002-2004. *JAMA The Journal of the American Medical*
544 *Association*, *292*, 2964-2966. https://doi.org/10.1001/jama.292.24.2964

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Seemann, T. (2014). Prokka : Rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, *30*(14), 2068-2069. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153

Seemann, T. (2016). *ABRicate : Mass screening of contigs for antiobiotic resistance genes.*

Seemann, T., Stroehlein, A., & Da Silva, A. G. (2016). *MLST: scan contig files against PubMLST typing schemes*.

The Galaxy Community. (2024). The Galaxy platform for accessible, reproducible, and collaborative data analyses : 2024 update. *Nucleic Acids Research*, *52*(W1), W83-W94. https://doi.org/10.1093/nar/gkae410

Tietze, E., & Brevet, J. (1990). Nucleotide sequence of the streptothricin-acetyl-transferase gene sat-2. *Nucleic Acids Research*, *18*(5), 1283.

Turton, J. F., Kaufmann, M. E., Glover, J., Coelho, J. M., Warner, M., Pike, R., & Pitt, T. L. (2005). Detection and Typing of Integrons in Epidemic Strains of Acinetobacter baumannii Found in the United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(7), 3074-3082. https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3074-3082.2005

Turton, J. F., Ward, M. E., Woodford, N., Kaufmann, M. E., Pike, R., Livermore, D. M., & Pitt, T. L. (2006). The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii. *FEMS Microbiology Letters*, *258*(1), 72-77. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00195.x

Wareth, G., Neubauer, H., & Sprague, L. D. (2019). Acinetobacter baumannii—A neglected pathogen in veterinary and environmental health in Germany. *Veterinary Research Communications*, *43*(1), 1-6. https://doi.org/10.1007/s11259-018-9742-0

WHO bacterial priority pathogens list, 2024 : Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. (s. d.). Consulté 25 juillet 2024, à l'adresse https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461

Yazdansetad, S., Najari, E., Ghaemi, E. A., Javid, N., Hashemi, A., & Ardebili, A. (2019). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates carrying *bla*OXA genes with upstream IS*Aba1* : First report of a novel OXA subclass from Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *18*, 95-99. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.12.011

Ying, C., Li, Y., Wang, Y., Zheng, B., & Yang, C. (2015). Investigation of the molecular epidemiology of Acinetobacter baumannii isolated from patients and environmental contamination. *The Journal of Antibiotics*, *68*(9), 562-567. https://doi.org/10.1038/ja.2015.30

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tables and figures

Table 1 : Patients and clinical environmental strains

Patient N°	Isolate N°	Sampling date	Clonality	Type of case	Type of samples	Resistance profil	*intI2*	GC array
1	124	07/05/2023	1	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
1	398	09/05/2023	6	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
1	399	13/05/2023	1	Infection	Respiratory tract	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
1	405	13/05/2023	7	Infection	catheter	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
2	402	07/05/2023	5	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	-	
3	131	30/05/2023	2b	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
3	407	12/05/2023	6	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
4	133	10/06/2023	2a	Infection	Urine	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
4	384	17/05/2023	3a	Infection	Blood culture	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
4	408	14/05/2023	6	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
4	409	19/05/2023	8	Infection	catheter	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
4	411	30/05/2023	3	Infection	Urine	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
4	412	10/06/2023	8	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
5	130	22/05/2023	2b	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
5	413	14/05/2023	9	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
5	414	22/05/2023	10	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
6	125	15/05/2023	4	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, IPM, TOB, GEN, CIP, SXT, TMP, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

6	416	17/05/2023	6	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
7	129	20/05/2023	2a	Colonization	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
8	385	12/06/2023	3b	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
8	386	11/07/2023	3a	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
8	417	25/07/2023	8	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
9	387	09/07/2023	1	Infection	Blood culture	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
9	418	10/07/2023	6	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
10	388	29/08/2023	1	Infection	Blood culture	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
10	419	28/08/2023	6	Infection	Superficial pus	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
10	420	28/08/2023	6	Infection	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
10	421	29/08/2023	6	Infection	Blood culture	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
11	389	19/10/2023	1	Colonization	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
12	403	26/10/2023	1	Colonization	Faeces	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	390	24/05/2023	1	Without patient and after cleaning	Operating room	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	391	15/06/2023	1	Without patient and after cleaning	VD mattress	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	392	15/06/2023	1	Without patient and after cleaning	VD mattress (underside)	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	393	11/07/2023	1	Without patient and after cleaning	Blood pressure monitoring equipment	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	394	11/07/2023	6	Without patient and after cleaning	Bair Hugger 1	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	395	11/07/2023	6	Without patient and after cleaning	Bair Hugger 2	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB,	+	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

						GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL		
clinical environment	396	17/07/2023	11	Without patient, after room cleaning	recuperation filter 1	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
clinical environment	397	17/07/2023	12	Without patient, after room cleaning	recuperation filter 2	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	*dfrA1-sat2-aadA1*
clinical environment	400	24/05/2023	8	Without patient, after cleaning	Physiotherapy equipment	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	401	24/05/2023	1	Without patient, after cleaning	VD mattress	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	
clinical environment	404	25/10/2023	6	With patient, during hospitalization	Respirator screen	TIC, TCC, PIP, TZP, CAZ, FEP, IPM, TOB, GEN, AMK, CIP, SXT, TMP, TET, CHL	+	

[a] : same clone shared the same number/ colour; a and b : sous-type of the same clone

[b] : Infection case was defined as any patient with a Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRA*b*) isolated from a clinical sample, associated with symptoms and antibiotic treatment prescription. Colonization case was defined as any patient with a CRA*b* isolated from a screening or clinical sample without antibiotic treatment decision.

TIC: Ticarcilin; TCC: Ticarcilin-clavulanic acid; PIP: Pipercilin; TZP: Piperacilin-tazobactam; CAZ : Ceftazidim; FEP : Cefepim; IPM : Imipenem; TOB; Tobramycin; GEN : Gentamicin; AMK : Amikacin; CIP : Ciprofloxacin; SXT : Trimethoprim-sulfamethoxazole; TMP : Trimethoprim; TET : Tetracyclin; CHL : Chloramphenicol

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Supplementary Tables and Figures

Table S1: List of primers used in the present study

CAL-2L	GGTGACAAAACGAGCATGCT	class 2 integron/ gene cassette array	Laboratory collection
CAL-2R	GATGCCATCGCAAGTACGAG		
aadA1-3'	TGCGCTGTACCAAATACGAG	Gene cassette array	This study
sat2-F	GCCCCTACCGGAAGGATTAC		
ERIC-1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC	ERIC-PCR	(Ying *et al.*, 2015)
ERIC-2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG		
VL1	GAGGGTGGNGGNTCT		(Couvé-Deacon *et al.*, 2019)

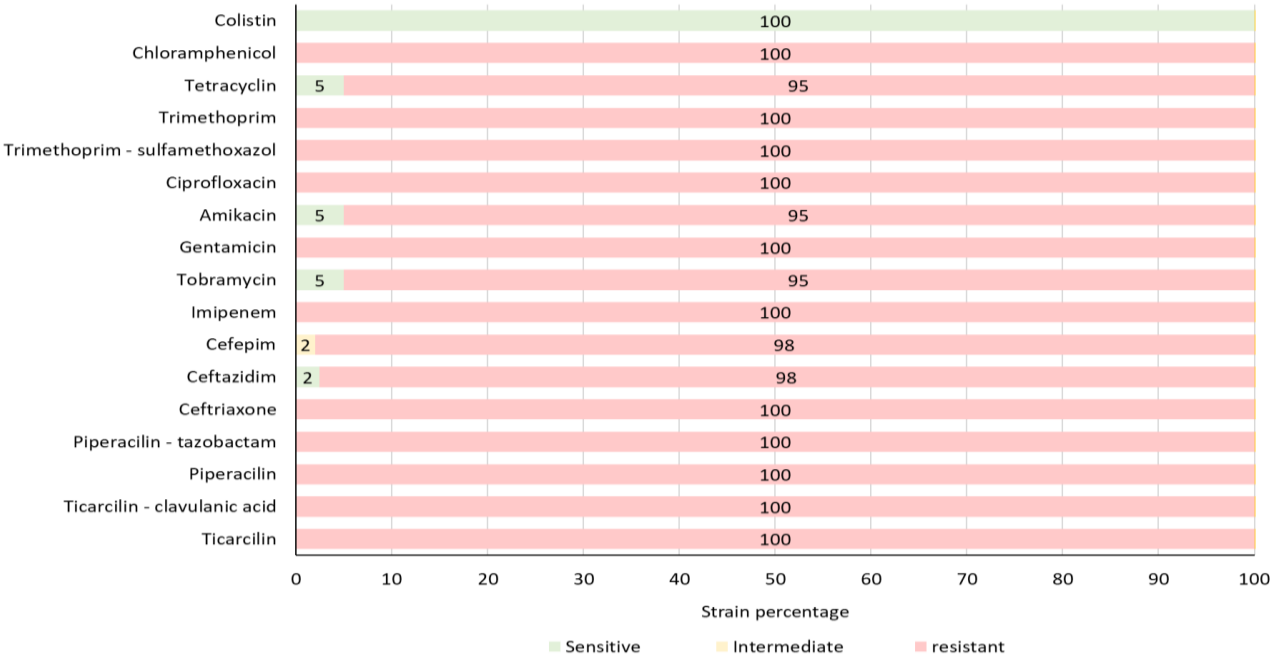


Figure S1: Antibiotic sensitivity of the strains

The histogram shows for each antibiotic tested the percentage of strains (n=41) that are sensitive (light green), intermediate (light yellow) or resistant (light red).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Isolate N°	ERIC-PCR	ST pasteur	*aac(3)-IId*	*aadA1*	*ant(2")-Ia*	*aph(3")-Ib*	*aph(3")-Ia*	*aph(3")-VIa*	*aph(6)-Id*	*blaADC-87*	*blaADC-158*	*blaCARB-16*
124	1	1		2	1	1	1	1	2			
131	2	1		2	1	1	1	1	2			
384	3	1		2	1	1	1	1	2			
398	6	1		2		1	1	1	2			
405	7	1		2	1	1	1	1	2			
409	8	1		2	1	1	1	1	2			
414	10	1		2	1	1	1	1	2			
396	11	1		2	1	1	1	1	2			
397	12	1		2		1	1	1	2			
125	4	107		1	1		1			1		1
413	9	107		1	1		1			1		1
402	5	52	1			1		1	1		1	

Isolate N°	ERIC-PCR	ST pasteur	*blaNDM-1*	*blaOXA-23*	*blaOXA-51*	*blaOXA-58*	*blaOXA-69*	*blaOXA-98*	*dfrA1*	*sat2*	*sul2*	*tetB*
124	1	1	1	2			1		2	2	2	1
131	2	1	1	2			1		2	2	2	1
384	3	1	1	2			1		2	2	2	1
398	6	1	1	2			1		2	2	2	1
405	7	1	1	2			1		2	2	2	1
409	8	1	1	2			1		2	2	2	1
414	10	1	1	2			1		2	2	2	1
396	11	1	1	2			1		2	2	2	1
397	12	1	1	2			1		2	2	2	1
125	4	107		1	1				1	1	1	1
413	9	107		1	1				1	1	1	1
402	5	52	1			1		1			1	2

Figure S2: Resistance genes identified within the strains

Resistance genes were identified using AMRFinderPlus, staramr and ABRIcate across the sequenced genome of the 12 strains. The color variation represents the number of times the gene has been identified within the bacterial genome (light blue = 0 to dark blue = 2).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Axe fondamental : Etude de la régulation de l'intégrase des IM1 chez *A. baumannii*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Elément majeur de la réponse aux dommages de l'ADN chez le genre *Acinetobacter*, le répresseur *UmuDAb* partage avec la protéine LexA, régulateur de la réponse SOS, une structure tridimensionnelle et des fonctions proches. Du fait de cette similarité structurale, nous avons émis l'hypothèse que UmuDAb pourrait se fixer au niveau de la boite LexA (site de fixation de la protéine LexA) située au niveau du promoteur de l'intégrase des IM1 et ainsi réguler l'expression de l'intégrase.

Cette étude se base sur des travaux préliminaires de notre laboratoire étudiant l'expression de l'intégrase des intégrons de classe 1 chez une souche de *A. baumannii* nommée CM152. Pour cela des constructions plasmidiques portant différents variants du promoteur de cassettes de gène, PcS, et du promoteur de l'intégrase, PintI1 (**Tableau 7**), en fusion transcriptionnelle respectivement avec les gènes rapporteurs *lacZ* et *uidA* (**Figure 46**) ont été transformés dans la souche de *A. baumannii* clinique CM152 sauvage ainsi que dans un mutant de CM152 non-fonctionnel de *umuDAb*.

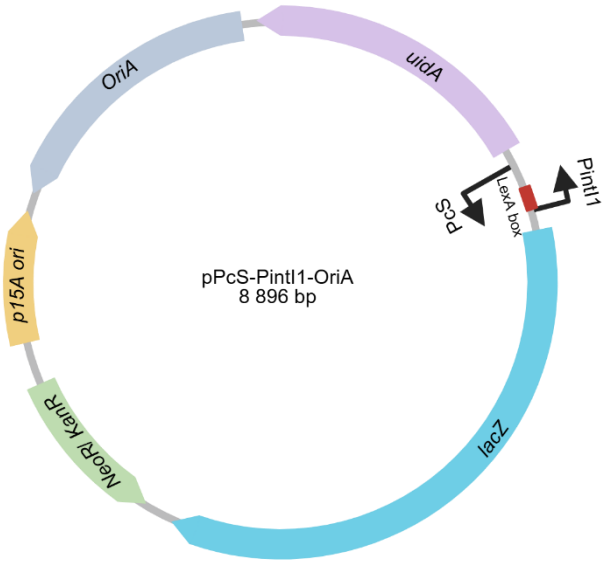


Figure 46 : Représentation schématique de la construction double utilisée

Le plasmide pPcS-PintI1-OriA (pPcS) comporte les origines de réplication *p15A* (jaune) et *oriA* (gris*)* permettant la réplication du plasmide respectivement chez *E. coli* et *A. baumannii,* ainsi qu'un gène de résistance à la kanamycine (vert) permettant la sélection des transformants. On retrouve la région promotrice de l'IM1 avec PintI1 (flèche noire) en fusion transcriptionnelle avec le gène rapporteur *uidA* (violet clair) et le promoteur PcS (flèche noire) en fusion avec transcriptionnelle le gène rapporteur *lacZ* (bleu). Le site de fixation de la protéine LexA (boîte LexA) au niveau du promoteur PintI1 est indiqué par un carré rouge. Créée sur https://BioRender.com

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tableau 7 : Plasmides utilisés dans l'étude préliminaire

Nom du plasmide	Description	Activité
pPcS	Construction sauvage	Activité basale des promoteurs PintI1 et PcS
pLexA*-OriA	Construction possédant une mutation au niveau de la boîte LexA	Etude de l'activité des promoteurs lors de l'inactivation de la boîte LexA
pPcS*-LexA*-OriA	Construction possédant une mutation au niveau du promoteur des GC PcS et de la boîte LexA	Etude de l'interférence transcriptionnelle entre les deux promoteurs par l'inactivation du PcS et de la boîte LexA

La quantification des transcrits *uidA* par RT-qPCR a montré une augmentation significative de l'expression du gène *uidA* chez la souche CM152 portant le pLexA*-OriA (boite LexA mutée entrainant une expression constitutive de *intI1* chez *E. coli*) ou le pPcS*-LexA*-OriA (mutation inactivant le PcS et mutation de la boite LexA) par rapport à la souche CM152 portant le plasmide sauvage pPcS (**Figure 47**). Ces résultats indiquent qu'une mutation au sein de la boîte LexA induirait une augmentation de l'activité de PintI1 chez *A. baumannii* CM152.

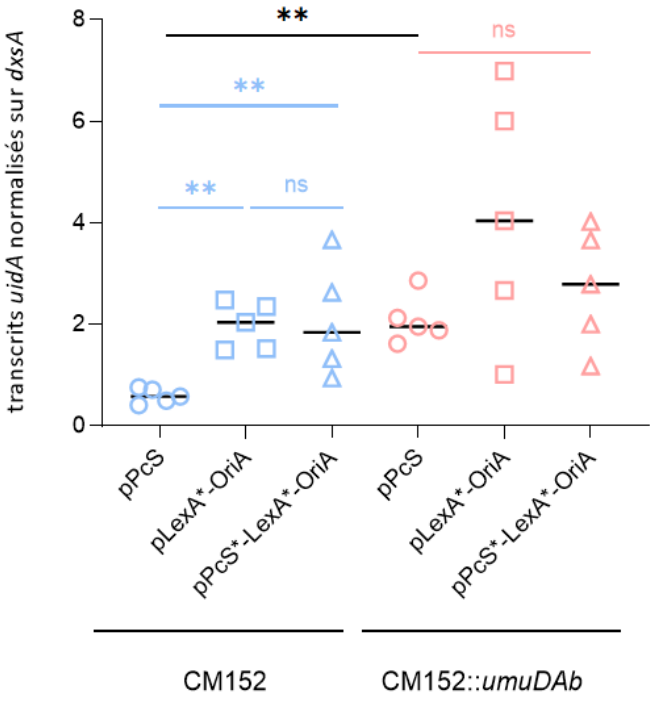


Figure 47 : Quantification par RT-qPCR de l'activité du promoteur PintI1 chez CM152 et CM152*::umuDAb* portant les plasmides pPcS, pLexA*-OriA et pPcS*-LexA*-OriA

Les quantifications sont exprimées en ratio du nombre de transcrits de *uidA* normalisés sur *dxsA*. La figure compare l'expression du gène *uidA* entre les deux souches (CM152 en bleu et CM152*::umuDAb* en rose) portant le plasmide pPcS (plasmide portant les promoteurs PcS et PintI1 sauvage ; cercle), pLexA*-OriA (mutation dans la boite LexA empêchant la fixation de LexA ; carrés) ou pPcS*-LexA*-OriA (double mutant au niveau de la boîte LexA et du promoteur PcS ; triangles). Les signes ** indiquent une différence significative entre les conditions avec p<0,01. La valeur ns signifie que les résultats ne sont pas significatifs.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chez le mutant CM152::*umuDAb*, le niveau d'expression de *uidA* était similaire quelle que soient la construction plasmidique (pPcS, pLexA*-OriA et pPcS*-LexA*-OriA). Cependant les résultats montraient une augmentation significative de l'expression de *uidA* chez la souche mutée par rapport à la souche sauvage portant le pPcS (**Figure 47**). Ces observations suggéraient que l'absence de la protéine UmuDAb augmenterait le niveau d'activité du promoteur PintI1.

Ces résultats semblaient être en corrélation avec l'hypothèse de départ, néanmoins, la souche de *A. baumannii* sélectionnée était très compliquée à manipuler génétiquement. En effet, il n'a pas été possible d'obtenir un mutant de délétion propre de *umuDAb* et le mutant *recA* de cette souche s'est avéré très instable.
Aussi, afin d'étudier la régulation de l'expression de l'intégrase d'IM1 chez *A. baumannii,* nous avons décidé de changer de souche et d'utiliser une des souches cliniques de *A. baumannii* isolée au CHU de Limoges, que nous avons nommée AG2, possédant une fréquence de transformation élevée (cf. axe 1). En effet nous avons supposé qu'une souche capable de transformation naturelle serait plus simple à manipuler pour obtenir des mutants des régulateurs de la réponse aux dommages de l'ADN chez le genre *Acinetobacter*, UmuDAb et DdrR.

Nous avions deux objectifs dans cet axe :

1) Vérifier *in vitro* si la protéine UmuDAb était capable de se fixer sur la boïte LexA du promoteur PintI1 par des expériences de retard sur gel.
2) Etudier, par des expériences de RT-qPCR, l'activité des promoteurs PintI1 et PcS au sein d'un « vrai intégron » chez la souche de *A. baumannii* AG2 sauvage et chez ses mutants de délétions pour les gènes *umuDAb* et *ddrR* afin de déterminer le rôle potentiel de ces deux protéines dans la régulation de l'intégrase et des GCs chez les IM1.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Matériel et Méthodes

I. Souches bactériennes et plasmides

Les souches bactériennes et les plasmides utilisés sont listés dans le **Tableau 8**. Les souches ont été cultivées en milieu LB supplémenté, lorsque cela était nécessaire, en kanamycine à 25 mg/ml (Kan25), chloramphénicol à 25 mg/ml (Chl25), apramycine à 30 mg/ml (Apr30), saccharose 10% ou ampicilline à 100 mg/ml (Amp100).

Tableau 8 : Souches et plasmides utilisés dans l'axe fondamental

Souche ou plasmide	Description/ caractéristiques	Références
E. coli		
Stellar	*F–, endA1, supE44, thi-1, recA1, relA1, gyrA96, phoA, Φ80d lacZΔ M15, Δ (lacZYA – argF) U169, Δ (mrr – hsdRMS – mcrBC), ΔmcrA, λ–*	TaKaRa Bio
DH5α	*F-Φ80lacZΔM15 Δ(lacZYA-argF) U169 deoR nupG recA1 endA1 hsdR17(rK- mK+) phoA glnV44 (supE44) thi-1 gyrA96 relA1, λ-*	Zymo research
BL21 (DE3)/pLysS	*F-ompT gal hsdSB (rB-mB-) dcm lon λDE3;* pLysS	Collection du laboratoire
A. baumannii		
AG2	Souche clinique de *A. baumannii* isolée au CHU de Limoges. *lacZ-, uidA-*	Cette étude
AG2Δ*ddrR ::sacB-aacC4*	Remplacement chez AG2 du gène *ddrR* par la cassette *sacB-aacC4*	Cette étude
AG2Δ*ddrR*	Souche AG2 délétée du gène *ddrR*	Cette étude
AG2Δ*umuDAb ::sacB-aacC4*	Remplacement chez AG2 du gène *umuDAb* par la cassette *sacB-aacC4*	Cette étude
AG2Δ*umuDAb*	Souche AG2 délétée du gène *umuDAb*	Cette étude
Plasmides		
pMHL2	Plasmide contenant la cassette *sacB-aacC4* pour la création des mutants de délétion	(Godeux *et al.*, 2020)
pET-*lexA*	Plasmide permettant la production et purification de la protéine LexA d'*E. coli*	(Da Re *et al.*, 2009)
pET-*umuDAb*	Plasmide permettant la production et purification de la protéine UmuDAb de *A. baumannii*	Cette étude
P15A-gamme	Plasmide de gamme contenant les gènes *gyrB, intI1* et *aadA1* pour quantifier le nombre de transcrits en qPCR	Cette étude
pludA	Plasmide de gamme contenant les gènes *dxsA, uidA* et *lacZ* pour quantifier le nombre de transcrits en qPCR	Collection du laboratoire

Licence CC BY-NC-ND 4.0

pS-4GC	Plasmide pZA2 portant un IM1 contenant *intI1S-aadA1-catB9R-aacA4*-dfrA15, dont le promoteur des CG est PcS)	(Lacotte *et al.*, 2017)
pZAintIY312F-PcW-4GC	Plasmide pZA2 portant un IM1 contenant *intI1W-aadA1-catB9R-aacA4-dfrA15* avec la mutation Y312F dans le gène *intI1* rendant l'intégrase inactive pour la recombinaison, dont le promoteur des CG est PcW	(Lacotte *et al.*, 2017)
pS*-4GC	pS-4GC avec le promoteur PcS muté (inactivation du promoteur)	Collection du laboratoire
pPcS	PcS cloné dans pZAintIY312F-PcW-4K7, remplace PcW.	Cette étude
pOriA-PcS	Insertion de l'origine de réplication oriA dans le plasmide pS-4GC	Cette étude
pOriA-LexA*	pOriA-PcS muté pour inactiver le site de fixation de la protéine LexA	Cette étude
pOriA-PcS-P2	Insertion d'un deuxième promoteur des cassettes P2, dans pOriA-PcS	Cette étude
pOriA-PcS*-LexA*	pOriA-PcS muté pour inactiver PcS et le site de fixation de la protéine LexA	Cette étude
pPcS-PintI1-OriA	Plasmide portant la région promotrice d'un IM1 avec PintI1 en fusion transcriptionnelle avec le gène *uidA* et PcS en fusion transcriptionnelle avec le gène *lacZ.* Le plasmide porte une origine de réplication p15A et oriA permettant sa réplication chez *E. coli* et *Ab* respectivement	(Couve-Deacon, 2017)
pPcS-PintI1-LexA*-OriA	pPcS-pintI1-OriA muté pour inactiver le site de fixation de la protéine LexA	(Couve-Deacon, 2017)
pPcS*-PintI1-LexA*-OriA	pPcS-pintI1-OriA muté pour inactiver PcS et le site de fixation de la protéine LexA	(Couve-Deacon, 2017)
pPintI1	Plasmide portant la région promotrice d'un IM1 utilisé pour l'amplification de la LexA-box	(Guerin *et al.*, 2009)
pPintI1*	Plasmide portant la région promotrice d'un IM1 mutée au niveau du site de fixation de la protéine LexA, utilisé pour l'amplification de la LexA-box	(Guérin *et al.*, 2011)

II. Les réactions de PCR

Pour les PCR d'amplification (simple ou de chevauchement), le mélange réactionnel comprenait 25 µL de PrimeSTAR® Max DNA Polymerase 2X (Takarabio), 1 µL d'amorces à 10 µM (**Tableau 11**), 21 µL d'H_2Oppi et soit 2 µL de suspension bactérienne (une colonie re-suspendue dans 50 µL d'H_2Oppi) ou 2 µL d'ADN à 20 ng/µL. Le programme s'est déroulé dans un thermocycleur Eppendorf™ Mastercycler™ nexus X2 comme suit : 5 min à 96°C (pour les PCR réalisées sur colonie) ou 10 s à 96°C (pour les PCR réalisées à partir d'ADN), 30 cycles :

Licence CC BY-NC-ND 4.0

10 s à 96°C, 15 s à X°C (selon la température de fusion (Tm) des amorces), 5 s/ Kb à 72°C puis une élongation finale de 30 s à 72°C. Puis les produits PCR ont été vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose puis purifiés avec le kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up (Macherey-Nagel).

Pour les PCR de vérification, le mélange réactionnel comprenait 7,5 µL de OneTaq® Quick-load 2X (New England Biolabs), 0.3 µL d'amorces à 10 µM (**Tableau 11**), 4,9 µL d'H_2Oppi et 2 µL de suspension bactérienne (une colonie re-suspendue dans 50 µL d'H_2Opp). Le programme s'est déroulé dans un thermocycleur Eppendorf™ Mastercycler™ nexus X2 comme suite : 5 min à 96°C, 30 cycles : 30 s à 94°C, 15 s à X°C (selon le Tm des amorces), 1 min/ Kb à 68°C puis une élongation finale de 5 min à 68°C.

Les produits PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose en suivant les conditions présentées dans l'axe épidémiologique.

Toutes les amorces utilisées lors de ce travail (construction des plasmides et des mutants de délétion, PCR de vérification, test de retard sur gel) sont regroupées dans le **Tableau 11**.

III. Construction des mutants de délétion *umuDAb* et *ddrR* de la souche AG2

Les différents mutants de délétion de la souche de *A. baumannii* AG2 (Δ*umuDAb* et Δ*ddrR*) ont été construits en utilisant la méthode de délétion sans cicatrice développée par (Godeux *et al.*, 2020). Cette technique consiste en 2 recombinaisons successives (**Figure 48**). Dans un premier temps le gène d'intérêt (*umuDAb ou ddrR*) a été remplacé par un fragment d'ADN contenant la cassette *sacB-aacC4* (sensibilité au saccharose et résistance à l'apramycine respectivement) amplifiée à partir du plasmide pMHL-2 (amorces 12 et 13) et des régions d'homologies d'environ 2 Kb autour des gènes à déléter (amorces 1-3 et 4-2 pour *umuDAb* et 1-8 et 9-7 pour *ddrR*) amplifiées à partir de la souche AG2. Les trois fragments ont été assemblés par PCR de chevauchement avec un ratio de 1/2/1 (région d'homologie/ cassettes/ région d'homologie) en utilisant les amorces 1-2 pour *umuDAb* et 1-7 pour). Les produits PCR vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose étaient purifiés en utilisant le kit Nucleospin Gel and PCR Clean Up (Macherey-Nagel). Le fragment de PCR purifié a été transformé par transformation naturelle comme décrit dans l'axe épidémiologique (cf. section III.4. du Matériel et Méthodes) et les bactéries recombinantes, AG2Δ*gène::sacB-aacC4,* ont été sélectionnées sur Apr30.

Dans un deuxième temps, une seconde PCR d'amplification des mêmes régions d'homologies de 2 Kb autour du gène à délété a été effectuée (amorces 1-6 et 5-2 pour *umuDAb*, 1-10 et 11-7 pour *ddrR*). Une PCR de chevauchement entre les 2 régions d'homologie a par la suite été réalisée avec un ratio 1/1 en utilisant les amorces 1-2 pour *umuDAb* et 1-7 pour *ddrR*. Après purification et vérification de l'amplicon comportant les 2 régions d'homologie, par

Licence CC BY-NC-ND 4.0

électrophorèse sur gel d'agarose, le fragment de PCR a été transformé par transformation naturelle dans la souche AG2Δ*gène::sacB-aacC4* associée et les clones recombinants ont été sélectionnés sur saccharose 10%. Les mutants de délétion ont été vérifiés par PCR et séquençage.

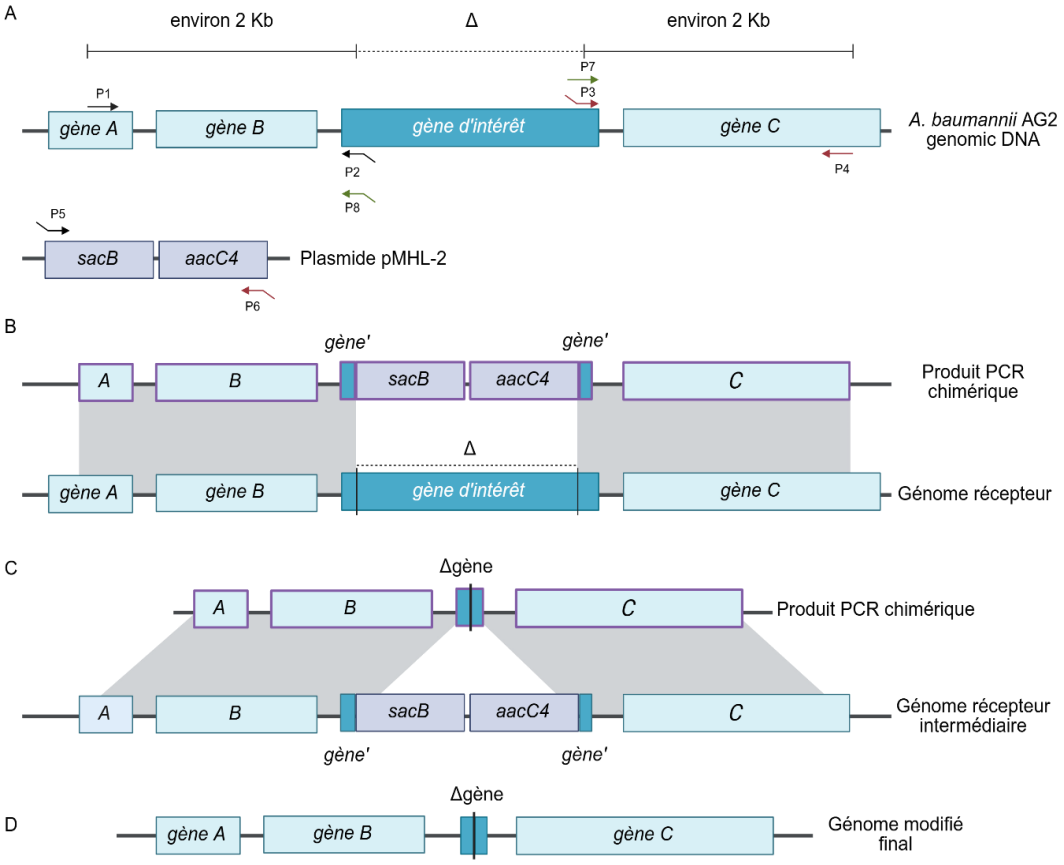


Figure 48 : Stratégie d'édition du génome sans cicatrice adaptée de (Godeux *et al.*, 2020)

Représentation schématique des différentes étapes de délétion du gène d'intérêt (bleu foncé) par transformation naturelle. (A) Sites d'hybridation des amorces des assemblages PCR sur leur matrice respective (ADN génomique de AG2 et plasmide pMHL-2). Les amorces notées P2, P3 et P7 partagent des séquences d'hybridation avec les amorces P5, P6 et P8 respectivement. (B) Produit PCR chimérique obtenu après assemblage des 3 fragments précédemment obtenus (régions d'homologie de 2 Kb et cassette *sacB-aac4*). Les régions homologues vont permettre la recombinaison du produit PCR chimérique dans le génome de AG2 ce qui va donner le génome intermédiaire représenté en C (génome récepteur intermédiaire). (C) Produit de PCR chimérique composé des régions d'homologie de 2 Kb amplifiées à partir de l'ADN génomique en utilisant les amorces P1-P8 et P7-P4 portant le gène délété et permettant la recombinaison et le remplacement de la cassette. (D) Génome final délété du gène d'intérêt. Les transformants sont sélectionnés en fonction de leur résistance au saccharose et sensibilité à l'apramycine. Créée sur https://BioRender.com

IV. Construction des plasmides

Afin d'estimer l'activité des promoteurs PintI1 et PcS au plus près des conditions réelles, nous avons construit des plasmides portant un IM1 contenant une région variable composée de 4 GCs sous le contrôle du promoteur de cassette PcS (**Figure 49**). Ainsi l'activité du promoteur

Licence CC BY-NC-ND 4.0

PintI1 peut être suivi par la quantification du nombre de transcrits du gène *intI1* et celle du PcS par la quantification du nombre de transcrits de la première GC.

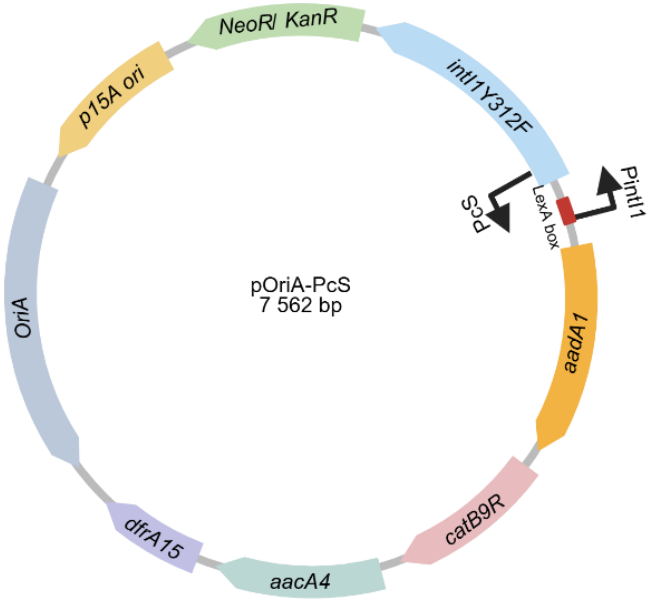


Figure 49 : Représentation schématique de la construction plasmidique portant un IM1

Le plasmide pOriA-PcS comprend les origines de réplication *p15A* (jaune) et *oriA* (gris) permettant la réplication du plasmide respectivement chez *E. coli* et *A. baumannii* ainsi qu'un gène de résistance à la kanamycine (vert) permettant la sélection des transformants. Il comporte aussi un IM1 constitué du gène de l'intégrase *intI1* muté au niveau de l'acide-aminé 312 (inactivation de l'activité de recombinase ; bleu clair) sous le contrôle de son promoteur PintI1 (flèche noire) et de 4 GCs : *aadA1* (jaune), *catB9R* (rose), *aacA4* (vert) et *dfrA15* (violet) sous le contrôle du promoteur de cassette, PcS (flèche noire). Le site de fixation de la protéine LexA (boîte lexA) est indiqué par un carré rouge. Créée sur https://BioRender.com

Tous les plasmides ont été construits en utilisant le kit In-Fusion® HD cloning (Takara Bio, USA). Le plasmide a été digéré avec une ou deux enzymes de restriction et le fragment d'intérêt est amplifié avec des amorces chevauchant les extrémités du plasmide digéré. Le plasmide digéré et le fragment amplifié sont purifiés puis incubés en présence d'un mix permettant une recombinaison homologue à chaque extrémité. Le **Tableau 9** indique les plasmides, enzymes de restriction, matrices et amorces utilisés pour les différentes constructions

IV.1. Digestion plasmidique et purification

Les digestions ont été réalisées dans un mix réactionnel de 50 µL comprenant 5 µL de rCutSmart™ (New England Biolabs), les enzymes de restriction à 10 000 U, 1 à 5 µg d'ADN plasmidique (**Tableau 9**) et de l'H_2Oppi. Les plasmides linéarisés ont été purifiés après migration sur gel d'agarose 0,8% avec le kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up (Macherey-Nagel) ou le kit Monarch® DNA Gel Extraction Kit (New England Biolabs).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

IV.2. Amplification des inserts et purification

Les fragments d'intérêt ont été amplifiés et purifiés comme indiqué dans le paragraphe I.2. Pour la mutation du site de fixation de LexA (inhibant la fixation de la protéine LexA) ou la construction du double mutant avec une mutation au niveau de la boîte LexA et du promoteur PcS (pLexA* et pPcS*-LexA* respectivement), les inserts ont été construits par PCR en deux temps. Tout d'abord deux fragments chevauchants contenant la mutation d'intérêt ont été amplifiés puis ont été assemblés en un seul fragment par PCR de chevauchement. Dans le **Tableau 11** sont indiqués les 2 couples d'amorce utilisés pour la 1ère étape.

IV.3. Réactions In-Fusion

10 µL de mix réactionnel comprenant, 2µL de 5X In-Fusion HD Enzyme Premix, le vecteur linéarisé et le fragment PCR purifié (dans un ratio de 4:1 préconisé par le site In-Fusion molar ratio calculator) ont été incubés dans un thermocycleur pendant 15 min à 50°C puis placés sur de la glace. 2,5 µL du mix ont été transformés dans 50 µL de cellules compétentes soit par choc thermique en utilisant les *E. coli* Stellar™ Competent Cells (Takara Bio, USA), soit par électroporation en utilisant les *E. coli Mix & Go!* Competents Cells - DH5α (Ozyme, France), en suivant les préconisations des fournisseurs. Les transformants ont été sélectionnés sur géloses LB+Kan25.

IV.4. Vérification des constructions

L'acquisition du plasmide par les clones ayant poussés sur le milieu sélectif était vérifiée par PCR. Le plasmide était alors purifié (kit de purification de plasmides à faible copie NucleoSpin® Plasmid/Plasmid de Machery-Nagel) et séquencé par séquençage SANGER afin de valider l'insertion du fragment d'intérêt.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Tableau 9 : Plasmides, enzymes de restriction, matrices et amorces utilisés pour les différentes constructions plasmidiques par In-Fusion

Construction	Plasmide digéré		Fragment amplifié		« Action »
	Nom	Enzymes de restriction	Matrice	Amorces	
pET-umuDAb	pET-*lexA*	*NdeI* + *XhoI*	ADNg AG2	14-15	Remplacer le gène *lexA* par le gène *umuDAb*
pET-ddrR	pET-*lexA*	*NdeI* + *XhoI*	ADNg AG2	16-17	Remplacer le gène *lexA* par le gène *ddrR*
pPcS	pZAintIY312F-PcW-4K7	*EcoNI* + *BamHI*	pS-4GC	20-21	Remplacer le promoteur PcW par PcS
pOriA-PcS	pPcS	*AvrII*	pPcS-pintI1-OriA	18-19	Insertion de OriA au site *AvrII*
pOriA-PcS*	pOriA-PcS	*EcoNI* + *BamHI*	pZA2-S*-4GC	20-21	Mutation du promoteur PcS
pLexA*	pOriA-PcS	*EcoNI* + *BamHI*	pOriA-PcS	20-24/ 21-25	Mutation de la boîte LexA
pPcS-P2	pOriA-PcS	*EcoNI* + *BamHI*	pOriA-PcS	20-22// 21-23	Insertion du promoteur de CG, P2
PintI1*	pOriA-PcS	*EcoNI* + *BamHI*	pOriA-PcS	20-26/ 21-27	Mutation du promoteur PintI1
pPcS*-lexA*	pOriA-PcS*	*EcoNI* + *BamHI*	pOriA-PcS*	20/24/ 21-25	Mutation de la boîte LexA
p15a-gamme	pPcS	*AvrII* + *DraI*	ADNg AG2	32-35/ 34-33	Insertion d'une partie des gènes *gyrB* et *rpoB* respectivement

IV.5. Transformation des constructions dans les différents fonds génétiques de AG2

Pour la transformation des souches de AG2, AG2 Δ*umuDAb* et AG2 Δ*ddrR*, deux techniques ont été utilisées : soit par électroporation soit en utilisant la technique de transformation naturelle décrite dans l'axe épidémiologique. Dans les deux cas une colonie des transformants obtenus après incubation à 37°C était mis en culture 12h à 37°C sous agitation dans 5 mL de LB liquide + Kan25, avant d'être mis en collection dans du DMSO à 10%.

V. Courbe de croissance

La croissance des trois fonds génétiques portant les différentes constructions plasmidiques (plasmide avec un IM1 ou plasmide en fusion transcriptionnelle) a été vérifiée en réalisant des courbes de croissance. Les souches ont été mises à incuber pendant une nuit à 37°C sous agitation dans 5 mL de LB liquide, supplémenté ou non en Kan25. Une dilution a ensuite été effectuée dans 20 mL de LB pour avoir une DO_{600nm} de 0,1 puis les souches ont été mises à incuber à 37°C sous agitation. La DO_{600nm} a été mesurée à partir d'1h d'incubation puis toutes les 15 min jusqu'à 305 min.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

VI. RT-qPCR

VI.1. Préparation du plasmide de gamme

Les plasmides de gamme (pludA et p15a-gamme) ont été purifiés et dosés au Multiskan™ FC (ThermoFisher Scientific). Le nombre de copies de plasmide a été calculé en utilisant la formule :

$$\text{Nombre de copies de plasmide/ µL} = \frac{[concentration\ du\ plasmide]*(6{,}022*10^{23})}{(taille\ du\ plasmide)*(1*10^{9})*650}$$

Le plasmide a ensuite été dilué dans de l'H_2Oppi à la concentration de 0,2*10^9 copies/µL et aliquoté en fractions de 25 µl conservées à -80°C.

VI.2. Préparation des culots et extraction des ARN

Les souches ont été mise en culture dans 5 mL de LB+Kan25 et incubées une nuit à 37°C sous agitation (250 rpm). Les cultures ont été diluées au 1/100ème dans 5 mL de LB+Kan25, mises à incuber à 37°C sous agitation jusqu'à atteindre une DO_{600nm} de 0,6. Puis 1,5 mL de la culture a été centrifugé 7 min à 5 000g à 4°C. Après élimination du surnageant, les culots bactériens ont été conservés à -80°C.

L'extraction des ARNs a été effectuée en utilisant le kit NucleoSpin® RNA (Macherey-Nagel) et un traitement à la turbo-DNAse supplémentaire a été fait en utilisant le kit Turbo DNA-free™ Invitrogen™ (ThermoFisher Scientific). Pour cela 3,7 µL de 10X Turbo DNAse Buffer et 1,5 µL de Turbo DNAse ont été ajoutés à 30 µL d'extraction d'ARN et le mélange a été incubé 30 min à 37°C. Puis 7 µL de DNAse Inactivation reagent a été ajoutée et le mélange a été incubé 2 min à température ambiante avant d'être centrifugé 1min 30 à 10 000g. Le surnageant (20 µl environ) a été récupéré. Par la suite la qualité des ARNs a été vérifiée sur gel d'agarose 1%, et les ARNs ont été dosés au NanoDrop 1000 (ThermoFisher Scientific). Les échantillons ont été dilués avec de l'H_2O DEPC à 100 ng/µL pour les souches portant les plasmides contenant l'IM1 dans sa conformation naturelle et 30 ng/µL pour les souches contenant les plasmides en fusion transcriptionnelle. Les échantillons ont été conservés à -80°C en aliquots de 25µL.

VI.3. Quantification des transcrits

Le nombre de transcrits des gènes *intI1, aadA1* et *gyrB* (pour les plasmides contenant un IM1) ou bien des gènes *uidA, lacZ* et *dxsA* (pour les plasmides en fusion transcriptionnelle) a été quantifié par PCR quantitative en temps réel sur l'appareil Bio-Rad CFX96™ Real-Time System (Bio-Rad) en utilisant le kit Luna® Universal One-Step RT-qPCR (New England Biolabs). Le mix réactionnel contenait 10 µL de Luna Universal One-Step Reaction Mix (2X), 1 µL de Luna WarmStart RT Enzyme Mix (20X), 5 µL d'ARN, de plasmide de gamme ou H_2O (contrôle sans ARN), et les amorces dans un volume final de 20 µL. Afin de vérifier l'absence d'ADN contaminant dans nos échantillons d'ARN, un contrôle négatif de chaque échantillon

Licence CC BY-NC-ND 4.0

dans un mix réactionnel sans Luna WarmStart RT Enzyme Mix (20X) était réalisé. Les concentrations d'ARN et quantités d'amorces utilisés sont indiqués **Tableau 10**. Les conditions d'amplification étaient les suivantes : une étape de transcription inverse de 10 min à 55°C, une dénaturation initiale de 1 min à 95°C, 40 cycles de dénaturation à 95°C pendant 10 s et d'élongation à 60°C pendant 30 s et une étape finale (courbe de fusion) de 60 à 95°C 0,5°C/ 0,05 s.

Pour les plasmides de gamme, des dilutions en série au 10ème étaient réalisées à partir d'un aliquot à 0,2*10^{9} copies/µL (paragraphe I.6.1), de sorte à avoir une gamme entre 10^{2} et 10^{8} copies dans le mélange réactionnel.

Les résultats de qPCR obtenus ont été analysés avec le logiciel Bio-Rad CFX Manager. Les transcrits des gènes *intI1* et *aadA1* ont été normalisés par rapport aux transcrits du gène *gyrB* et ceux des gènes *uidA* et *lacZ* par rapport aux transcrits du gène *dxsA*. Les figures et les tests statistiques ont été effectués sur GraphPad Prism 8.

Tableau 10 : amorces et plasmides de gamme utilisés pour la quantification par RT-qPCR du nombre de transcrits des gènes d'intérêt

Gène quantifié	ARN		Amorces (10 µM)		Plasmide de gamme utilisé
	Concentration initiale (ng/µL)	Dilution utilisée	Nom	Volume (µl)	
intI1	100	1	36-37	0,6	p15A-gamme
aadA1	100	100	38-39	0,4	
gyrB	100	100	40-41	0,5	
uidA	30	1000	42-43	0,4	pludA
lacZ	30	1000	44-45	0,4	
dxsA	30	100	46-47	0,4	

VII. Retard sur gel

VII.1. Purification des protéines UmuDAb et LexA

Les protéines possédaient en N-ter un « tag-histidine » permettant leur purification sur une résine de cobalt.

La purification des protéines a été réalisée en utilisant le kit HisTALON™ Buffer (TaKaRa Bio) conformément aux instructions du fabricant. Pour ce faire, les souches BL21 pLysS/pET-lexA et BL21 pLysS/pET-umuDAb ont été mises en culture dans 5 mL de LB+Cam25+Amp100 sur la nuit à 37°C et sous agitation à 250 rpm.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Le lendemain, 200 mL de LB+ Cam25+Amp100 ont été ensemencés avec les cultures de nuit diluée au 50ème. Les cultures diluées ont été incubées à 37°C sous agitation jusqu'à atteindre une DO_{600nm} comprise entre 0.5 et 0.6. Les cultures ont ensuite été induites avec de l'isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) à 5 mM final et remises sous agitation à 37°C pendant 4h30. Les cultures ont été centrifugées à 6 000 rpm pendant 15 min à 4°C puis les culots ont été remis en suspension dans du HisTALON™ xTractor™ Buffer (20 mL/g de culot) avec 1 µL de DNAse (250 U/µL), du lysozyme (0.75 mg/mL final) et un inhibiteur de protéases (ProteoGuard™ EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail 100 X (TaKaRa Bio) à 1X final. Une fois les bactéries lysées, les protéines ont été purifié par affinité, en ajoutant 2 mL de résine TALON® Metal Affinity Resin (TaKaRa Bio), rincées et équilibrées dans du HisTALON ™ Equilibration™ Buffer 1X, dans le mélange de lyse. Le mélange a été incubé 40 min à 4°C sur un roller puis centrifugé 5 min à 700 g à 4°C. Le mélange a été centrifugé et lavé plusieurs fois par ajout de 14 mL de HisTALON ™ Equilibration™ Buffer 1X. Après centrifugation la résine a été reprise dans 1 mL de HisTALON ™ Equilibration™ Buffer 1X puis chargée sur une TALON® 2mL Disposable Gravity Column (TaKaRa Bio, Clontech) avant d'être lavée avec du tampon à 30 mM d'imidazole (composé de 3 mL de HisTALON ™ Elution™ Buffer 1X à 150 mM d'imidazole et de 12 mL de HisTALON™ Equilibration™ Buffer 1X). Les protéines ont été éluées par 10 mL de HisTALON™ Elution™ Buffer 1X (150 mM d'imidazole) par fractions de 500 à 1 000 µL. Les fractions ont été testées pour vérifier la présence des protéines par migration sur un gel SDS-PAGE 12% (Sodium Dodecyml Sulfate – PolyAcrylamide Gel Electrophoresis) colorés au QuickBlue Protein Stain (LubioScience) et visualisés avec le logiciel Gel Doc™ EZ System (Bio-Rad) afin de révéler les protéines (**Figure 50**).

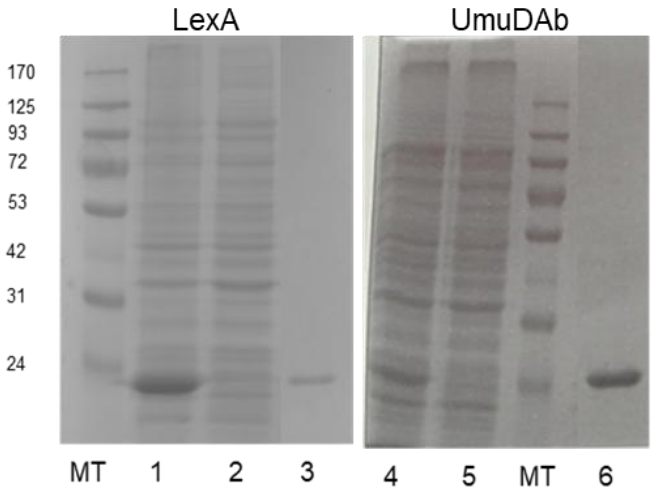


Figure 50 : Surproduction et purification des protéines LexA de *E. coli* et UmuDAb de *A. baumannii*

Les échantillons ont été analysés par SDS-PAGE (12% d'acrylamide). Les puits 1-2 et 4-5 contiennent les extraits bruts de cellules de *E. coli* BL21 (DE3) en présence ou en absence d'induction par IPTG respectivement. Les protéines purifiées et marquées sont représentées en 3 et 6. Sur la gauche sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs protéiques.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Toutes les fractions qui comprenaient, visuellement, moins de 5% de contaminant ont ensuite été regroupées afin d'être concentrées et dialysées à l'aide du Vivaspin™ Turbo 15 PES 10 kDa (Sartorius) dans du tampon de dialyse composé de 20 mM de TRIS-HCl pH=8, 50 mM de KCl, 1 mM de DTT (DiThioThréitol) et 1 mM d'EDTA (EthyleneDiamineTetraAcetic). Les protéines dialysées ont été dosées par un test de Bradford en utilisant le kit Quick Start Bradford Protein Assay 1X en utilisant la gamme d'étalon de γ-globuline bovine selon les recommandations du fournisseur.

VII.2. Amplification des fragments d'ADN contenant les sites de fixation de LexA ou UmuDAb

Les fragments d'ADN contenant les sites de fixation de la protéine LexA (site sauvage – *PintI1* - ou muté – *PintI1** - de 143 bp) ou celui de la protéine UmuDAb (*PumuDAb* de 242 bp) ont été amplifiés avec les amorces 30-31 et 28-29 respectivement à partir du plasmide pPintI1 pour P*lexA*, pPintI1* pour P*lexA** et de l'ADNg de AG2 pour P*umuDAb*.

VII.3. Retard sur gel

Les essais de retard sur gel ont été effectués en utilisant le kit Electrophoretic mobility-shift assay (EMSA) (ThermoFisher Scientific). Le mix réactionnel comprenait 2 µL de 5X binding buffer, X µL de protéine (suivant la concentration) et d'H_2Oppi dans un volume final de 9 µL. Le mélange a été incubé 20 min dans la glace puis 1 ou 2 µL de *PintI1, PintI1** ou de *PumuDAb* (20 ng/µl) a été ajouté. Une nouvelle incubation de 20 min dans la glace a été effectuée puis les échantillons ont été chargés, après ajout de 2 µL 6X EMSA gel loading solution, sur un gel natif de polyacrylamide à 6% et migrés dans un tampon pendant 90 min à 120V. Les gels étaient ensuite incubés 1h dans le noir sous agitation dans 50 mL de tampon TBE (Tris-Borate-EDTA) contenant 5 µL de SYBR™Green EMSA nucleic acid. Après un double rinçage dans de l'eau, les gels ont été visualisés avec le logiciel Gel Doc™ EZ System (Bio-Rad).

Tableau 11 : Amorces utilisées dans l'axe fondamental

N°	Amorce	Séquence	Cible	Référence
Construction des mutants de délétion de AG2				
1	Fragment-ddrR-5	CTG CAC ATG CCA GTG GTA ACG	Construction des mutants *umuDAb* et *ddrR*	Collection du laboratoire
2	Fragment-umuDAb-3	AAC GTC CAG ATA TTA TGT TCT CT	Création du mutant *umuDAb*	Collection du laboratoire
3	umuDAb-L3	CCA CCC TGG CGC CCA ATA CGC AAA CTT TGG CAT ATC GCC TCC ATT TC	Création du mutant *umuDAb*	Collection du laboratoire
4	umuDAb-L5-AG2	CGT GAC TGG GAA AAC CCT GGC GTT TCA AAC GAA TGA GAT AAA TTT TTC	Création du mutant *umuDAb*	Cette étude

Licence CC BY-NC-ND 4.0

5	umuDAb-del5-AG2	GGC GAT ATG CCA AAG CGA ATG AGA TAA ATT TTT CTT AT	Création du mutant *umuDAb*	Cette étude
6	umuDAb-del3-AG2	CTT TGG CAT ATC GCC TCC AT	Création du mutant *umuDAb*	Cette étude
7	umuDAb-ext-3	GCA GGT ATG CTA TTT GGG C	Création du mutant *ddrR*	Collection du laboratoire
8	ddrR-L3bis	CCA CCC TGG CGC CCA ATA CGC AAA CGG CTT ACA TCC CCT TAC CCA CTC	Création du mutant *ddrR*	Collection du laboratoire
9	ddrR-L5	GGG TTT GCT CGG GTC GGT GGC ATA TGG ATT TTT CAT TTC GCA TGT CTC C	Création du mutant *ddrR*	Collection du laboratoire
10	ddrR-del3	CAT CCC CTT ACC CAC TCA TAA G	Création du mutant *ddrR*	Cette étude
11	ddrR-del5	CTT ATG AGT GGG TAA GGG GAT GAT TTT TCA TTT CGC ATG TCT CC	Création du mutant *ddrR*	Cette étude
12	ampli-sacB-aacC4	GTT TGC GTA TTG GGC GCC AGG GTG G	Amplification de la cassette *sacB-aacC4* pour la construction des mutants de délétion	(Godeux *et al.*, 2020)
13	mlo-1	CAT ATG CCA CCG ACC CGA GCA AAC CCC GCC AGG GTT TTC CCA GTC ACG AC		
Construction des plasmides pour test de retard sur gel				
14	inf-pETumuDAb-ndeI	GTG CCG CGC GGC AGC CAT ATG CCA AAG AAG AAA GAA TTC G	Construction du pET-*umuDAb*	Cette étude
15	inf-pETumuDAb-XhoI	GTT AGC AGC CGG ATC CTC GAG TTA TCT CAT TCG TTT GAG GTT ATA GG		
16	infusion-ddrR-xhoI	GTT AGC CGG ATC CTC GAG TTA TGA GTG GGT AAG GGG ATG	Construction du pET-*ddrR*	Cette étude
17	infusion-ddrR-ndeI	GTG CCG CGC GGC AGC CAT ATG AAA AAT CAA CGT GAT GCA C		
Construction des plasmides pour étude de la régulation				
18	OriA-AvrII-5'	TCC GCC GCC CTA GAC CTA GGT ACC GGA TTT TAA CAT TTT GCG TTG	Insertion OriA dans pS-4GC	Cette étude
19	OriA-AvrII-3'	AAG CGG AAT ATA TCC CCT AGG ACC GAT CGT AGA AAT ATC TAT GAT TAT CTT G		
20	infusion-Pc-Ab-5	GCC AAT GCC TGA CGA TGC GTG GAG ACC G	Amplification pour création des mutants	Cette étude
21	infusion-Pc-Ab-3	GGA AAG TCG AAA CCT CCA GAA GGT C	Amplification pour création des mutants	Cette étude
22	P2-mut-L	ATGACTGTTTTTTTGGGGTACAGTCTATG CCTCGGGCATCCAAG	Construction P2	Cette étude

Licence CC BY-NC-ND 4.0

23	P2-mut-R	ATGCCCGAGGCATAGACTGTACCCCAAA AAAACAGTCATAACAA		
24	LexA-mut-2L	CAT GGC TTG TTA TGA AGT TTT TTT TGT ACA	Construction pLexA* et pPcS*-LexA*	(Guerin *et al.*, 2009)
25	LexA-mut-2R	CAT AGA CTG TAC AAA AAA AAC TTC ATA ACA AGC C		
26	PintI1-mut-10R	GGA TGC CCG AGG CAC GGA CTG TAC AAA AAA ACA GTC	Construction PintI1	(Guérin *et al.*, 2011)
27	PintI1-mut-10L	GTT TTT TTG TAC AGT CCG TGC CTC GGG CAT CCA AGC		
Retard sur gel				
28	emsa-umuDAb-5'	ATT CTC TTC AAA TTA CCA TTT CCG	Amplification du site de fixation de la protéine UmuDAb	Cette étude
29	emsa-umuDAb-3'	TCA TTG AAC TGT GCT TTA CGG		
30	Dorf11	CGC GGA TCC ATC GTT GCT GCT CCA TAA CA	Amplification du site de fixation de la protéine LexA	Collection du laboratoire
31	Inti1-fwd	CGA ACG CAG CGG TGG TAA		
Construction plasmide de gamme				
32	infusion-gyrB-DraI	CTT TTA GGA AAA TTT CTA GGG GAT ATA TTC GCT TGA TCA TGG TTT	Construction plasmide p15a-gamme	Cette étude
33	infusion-rpoB-AvrII	GAA TAT ATC CCC TAG GCT TTT AGG AAA ATT TAA AAC GTA GGT GAA GCT GC	Construction plasmide p15a-gamme	Cette étude
34	overlapping-rpoB	GCG CAC GCT CAA CCC TCA TCG ATT TCT GCG CTC TTC	Construction plasmide p15a-gamme	Cette étude
35	overlapping-gyrB	GTT GAG CGT GCG CGC TTT	Construction plasmide p15a-gamme	Cette étude
qPCR				
36	IntI LC15	CAT ACA GAA GCT GGG CGA AC	RT-qPCR gène *intI1*	Collection du laboratoire
37	IntI LC10	GCT TCA GGA GAT CGG AAG AC	RT-qPCR gène *intI1*	Collection du laboratoire
38	aadA1-AB3	TGC GCT GTA CCA AAT ACG AG	RT-qPCR gène *aadA1*	Cette étude
39	aadA1-AB5	GAA CAT AGC GTT GCC TTG GT	RT-qPCR gène *aadA1*	Cette étude
40	SP4R	CAA GTA AGT TTC TAA TGC ATC G	RT-qPCR gène *gyrB*	(Higgins *et al.*, 2007)
41	SP4F	CCC TGA CAA GCT CCG TTA TC	RT-qPCR gène *gyrB*	(Higgins *et al.*, 2007)

Licence CC BY-NC-ND 4.0

42	uidA L1	GAC GCT CAC ACC GAT ACC A	RT-qPCR gène *uidA*	Collection du laboratoire
43	uidA R2	TCG GCT GAT GCA GTT TCT C	RT-qPCR gène *uidA*	Collection du laboratoire
44	lacZ LC4	AAA TAT GAT GAA AAC GGC AAC C	RT-qPCR gène *lacZ*	Collection du laboratoire
45	lacZ LC5	CGG ATA AAC GGA ACT GGA AA	RT-qPCR gène *lacZ*	Collection du laboratoire
46	dxsA L	GAC ACC AAG CAT ACC CAC AT	RT-qPCR gene *dxsA*	Collection du laboratoire
47	dxsA R	GCA CCA TCA CCC ACA ATA CA	RT-qPCR gène *dxsA*	Collection du laboratoire
Séquençage				
48	intI LC15	CAT ACA GAA GCT GGG CGA AC	Vérification construction des plasmides	Collection du laboratoire
49	catB9R BamHI	CGC GGA TCC CTG CAA CCA CCG CGG CTC AAT		Collection du laboratoire
50	T7rev	TAG TTA TTG CTG AGC GGT GG	Vérification pET-*ddrR*/ pET-*umuDAb*	Collection du laboratoire
51	T7 forward	TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG		Collection du laboratoire

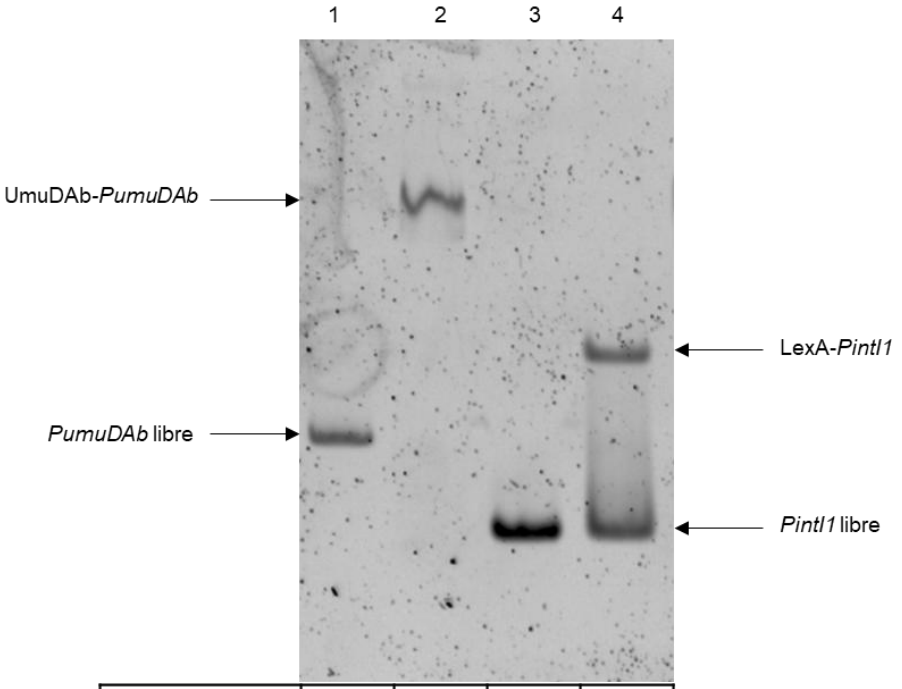
Licence CC BY-NC-ND 4.0

Résultats/ Discussion

I. Etude de la fixation de la protéine UmuDAb sur la boite LexA du promoteur de l'intégrase d'IM1

Le but de cette étude était de tester si la protéine UmuDAb pouvait se fixer sur la boîte LexA, située au niveau de PintI1, en utilisant la technique du retard sur gel dont le principe est de visualiser l'interaction entre une protéine et de l'ADN sous forme double-brin grâce à l'apparition d'un retard de migration du brin d'ADN dû à la formation d'un complexe protéine-ADNdb.

Nous avons tout d'abord testé la fonctionnalité des protéines LexA et UmuDAb en réalisant une expérience de retard sur gel des protéines avec leur propre promoteur et site de fixation (**Figure 51**).



LexA (ng)				600
UmuDAb (ng)		600		
PintI1 (ng/µl)			20	20
PumuDAb (ng/µl)	20	20		

Figure 51 : Vérification de l'intégrité des protéine UmuDAb et LexA

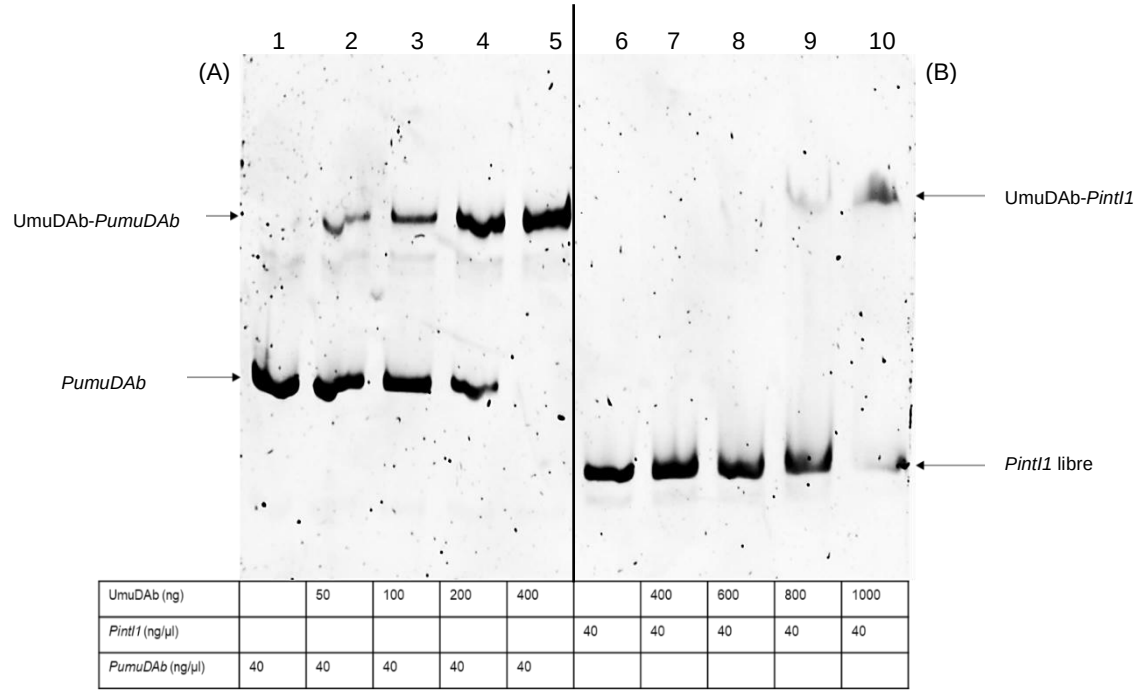
Les fragments d'ADN comprenant respectivement les promoteurs de *umuDAb* (*PumuDAb* ; puits 1 et 2) et de *intI1* (*PintI1* ; puits 3-4) ont été incubés en présence de 600 ng de leur protéines respectives, UmuDAb (puits 2) et LexA (puits 4). Les fragments incubés ont été migrés sur gel de polyacrylamide à 6% en condition non-dénaturante.

L'observation d'un retard de migration lorsque les fragments d'ADN portant l'un ou l'autre des promoteurs (PumuDAb et PintI1) sont incubées avec les protéines reconnaissant leur site

Licence CC BY-NC-ND 4.0

respectif (UmuDAb et LexA) indique que nous avons purifié des protéines fonctionnelles nous permettant alors de tester notre hypothèse.

Nous avons ensuite incubé les fragments d'ADN *PumuDAb* et *PintI1* avec un gradient de concentrations de la protéine UmuDAb. Nous avons observé un léger retard de l'ADN P*umuDAb* en présence de 50 ng de protéine et un retard complet avec 200 ng (**Figure 52.A**). Pour ce qui est de *PintI1*, les résultats montraient un très léger retard de migration de *PintI1* lorsque l'ADN est incubé avec 800 ng de protéine UmuDAb, le retard étant net mais pas total en présence de 1 µg de protéine (**Figure 52.B).** Ceci démontre que la protéine UmuDAb peut se fixer, *in vitro,* à la région promotrice de PintI1 et suggère qu'elle pourrait jouer un rôle dans la régulation de l'intégrase des intégrons chez *Acinetobacter spp*. Cependant ce retard n'apparait que pour des concentrations de UmuDAb bien supérieures à celles nécessaires pour retarder la totalité de *pumuDAb,* ce qui montre une moins bonne affinité de UmuDAb pour la boîte LexA que pour son propre site de fixation.



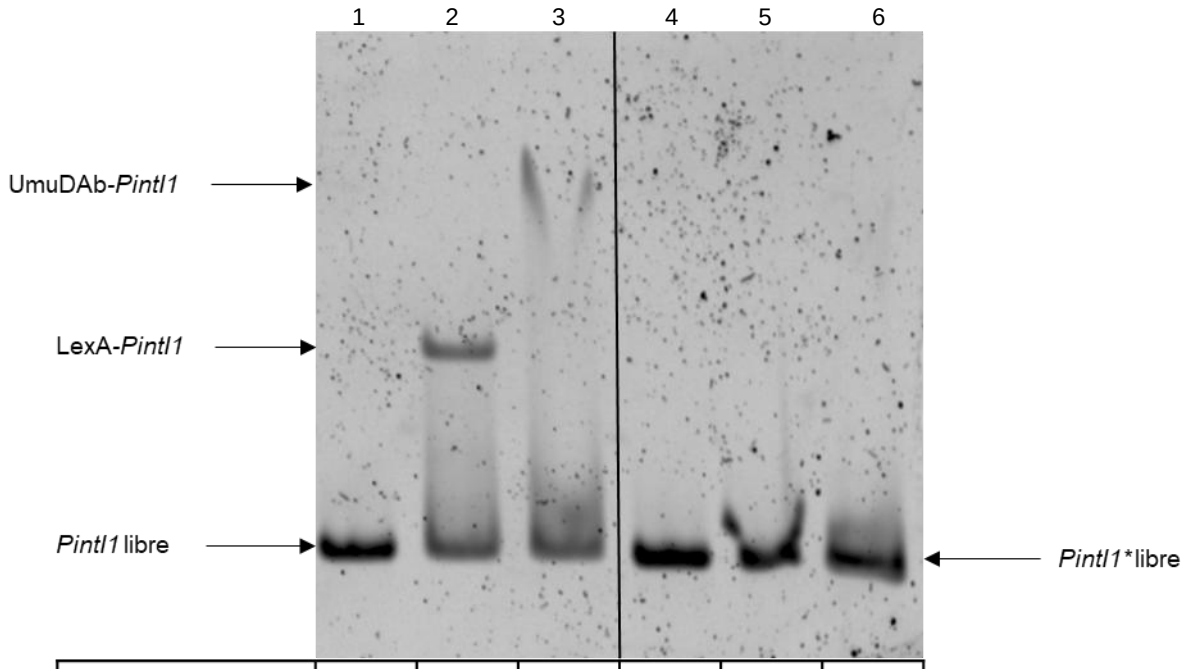
UmuDAb (ng)		50	100	200	400		400	600	800	1000
PintI1 (ng/µl)						40	40	40	40	40
PumuDAb (ng/µl)	40	40	40	40	40					

Figure 52 : Fixation de la protéine UmuDAb aux promoteur PumuDAb et PintI1

Les fragments d'ADN portant respectivement les sites de fixation de UmuDAb, *PumuDAb* [40 ng] (A) et de LexA, *PIintI1* [40 ng] (B) ont été incubés avec un gradient de concentration croissant de la protéine UmuDAb (indiqué en ng dans le tableau). Les fragments incubés ont été migrés sur gel de polyacrylamide à 6% en condition non-dénaturante.

Afin de vérifier que la fixation de UmuDAb se faisait au niveau du site de fixation de la protéine LexA, la boîte LexA, nous avons incubé les protéines UmuDAb et LexA avec un fragment d'ADN contenant le promoteur PintI1 avec la boite LexA mutée : *PintI1** (**Figure 53**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0



LexA (ng)		600			600	
UmuDAb (ng)			800			800
plexA (ng/µl)	20	20	20			
*plexA** (ng/µl)				20	20	20

Figure 53 : UmuDAb se fixe sur la boite LexA de PintI1

Les fragments d'ADN comprenant le promoteurs PintI1 sauvage (*PintI1*), puits 1 à 3, ou muté dans la boite LexA (*PintI1** ; puits 4 à 6) ont été incubés sans protéine (puits 1 et 3) ou en présence de 600 ng de protéine LexA (puits 2 et 4) ou de 800 ng de protéine UmuDAb (puits 3 et 6). Les fragments incubés ont été migrés sur gel de polyacrylamide à 6% en condition non-dénaturante.

Nous pouvons voir sur le gel que, tout comme la protéine LexA, la protéine UmuDAb ne peut pas se fixer sur *PintI1** (puits 5 et 6). De plus, nous pouvons remarquer que le complexe UmuDAb-P*intI1* est plus retardé que le complexe LexA- P*intI1* suggérant la formation d'un complexe plus gros pouvant avoir des implications fonctionnelles.

II. Etude du rôle des protéines UmuDAb et DdrR sur l'activité du promoteur PintI1 chez un intégron de classe 1

II.1. Etude de l'activité du promoteur PintI1 chez *A. baumannii*

Afin de pouvoir estimer le rôle des régulateurs de la réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter,* UmuDAb et DdrR, nous avons tout d'abord construit des mutants de délétion de ces régulateurs chez la souche de *A. baumannii* AG2 : AG2Δ*umuDAb* et AG2Δ*ddrR* respectivement. Comme indiqué dans le Matériel et Méthodes, nous avons choisi cette souche de *A. baumannii* dû à sa FT élevée. Nous avons en effet facilement obtenu les deux mutants de délétion en utilisant la technique d'édition du génome sans cicatrice (Godeux *et al.*, 2020).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Afin d'estimer l'activité des promoteurs PintI1 et PcS au plus près des conditions réelles, nous avons construit de nouveaux plasmides portant la structure complète d'un IM1 contenant le gène *intI1* muté, *intI1Y312F,* codant une intégrase non-fonctionnelle (incapable de catalyser les réactions de recombinaison) afin d'éviter le réarrangement des 4 CGs, situées dans la région variable de cet IM1, sous le contrôle du promoteur fort PcS. Pour réaliser ces constructions, nous avons utilisés le plasmide pZAintIY312F-PcW-4GC (Lacotte *et al.*, 2017) dans lequel nous avons ajouté une origine de réplication, nommée *oriA*, permettant la réplication du plasmide chez *A. baumannii*, et changer le PcW en PcS. Nous avons ainsi obtenu le plasmide : pOriA-PcS que nous nommerons pWT dans la suite dans cette étude (**Figure 54.A**). A partir du pWT nous avons construit un panel de plasmide comprenant le plasmide pOriA-LexA* ou pLexA* (mutation au niveau du site de fixation de la protéine LexA empêchant la fixation de LexA au promoteur PintI1), le plasmide pPcS-P2 ou pWT-P2 (insertion d'un promoteur P2 entraînant une mutation naturelle de la boite LexA (Jové et al., 2010)) et le plasmide pOriA-PcS*-LexA* ou pPcS*-LexA* (mutation à la fois au niveau du promoteur des cassettes PcS (PcS inactif) et de la boite LexA) (**Figure 54.B à D**).

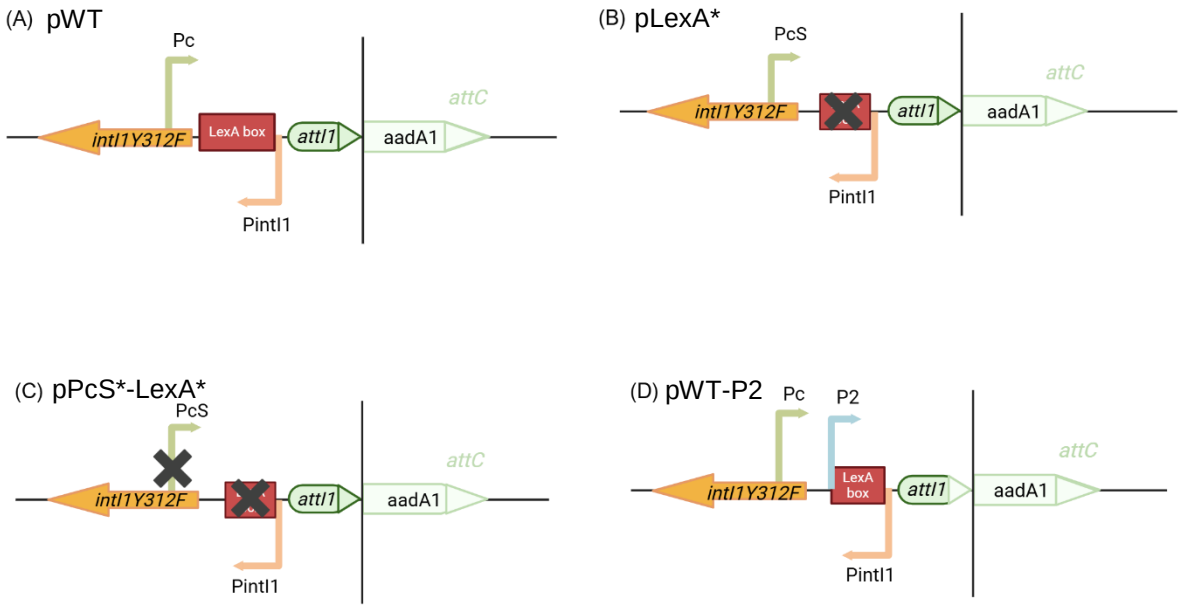


Figure 54 : Représentation schématique des différentes constructions utilisées dans cette étude

Schématisation de l'IM1 porté par les différentes constructions réalisées avec le gène de l'intégrase muté (orange) et son promoteur PintI1 (flèche orange clair), le promoteur des cassettes PcS (flèche verte), le site de fixation de la protéine LexA (boîte rouge), le site de recombinaison spécifique *attI* (vert clair) ainsi que la première CG (*aadA1*) et son site *attC*. A) pWT : IM1 de conformation sauvage ; B) pLexA* : IM1 avec le site de fixation de LexA muté afin d'empêcher la fixation de la protéine LexA ; C) pPcS*-LexA* : IM1 avec une double mutation (mutation inactivant le promoteur PcS et mutation de la boite LexA) ; D) pWT-P2 : IM1 avec le promoteur P2 (inactivation de la boite LexA). Créée sur https://BioRender.com

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.2. Courbe de croissance

Afin de vérifier que les mutations de délétion et les constructions plasmidiques n'avaient pas d'effet majeurs sur la croissance de notre souche, nous avons déterminé la courbe de croissance de nos trois souches sans plasmide ou bien avec les plasmides pWT ou pLexA*. Les courbes obtenues sont présentées **Figure 55**.

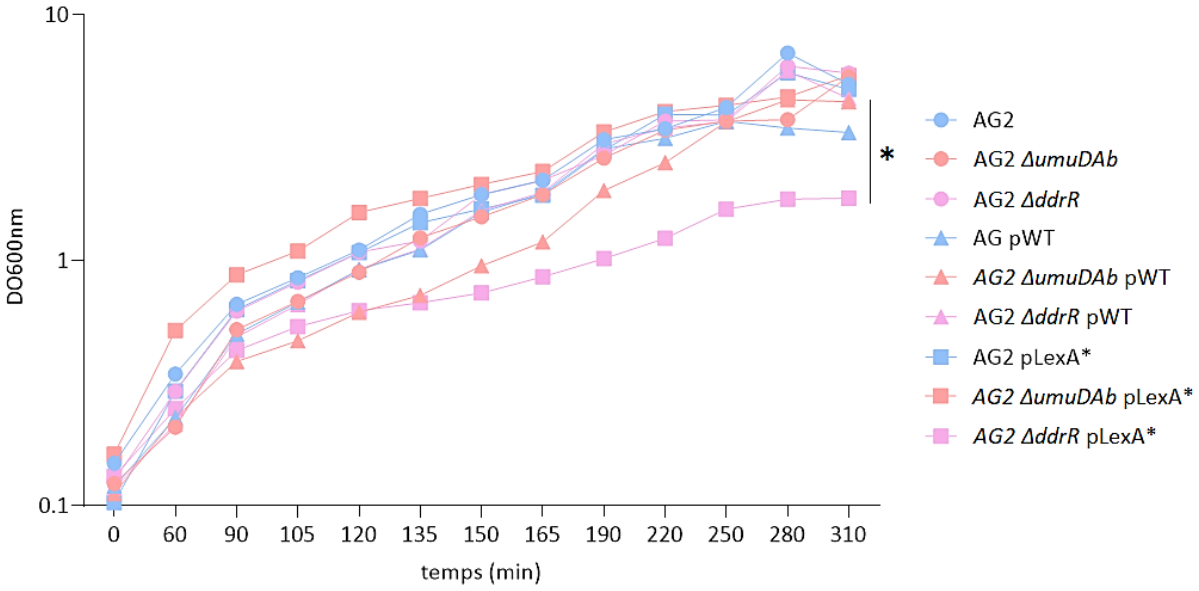


Figure 55 : Effet de la délétion des gènes *umuDAb* et *ddrR* et des plasmides pWT et pLexA* sur la croissance de la souche de *A. baumannii* AG2

Courbe de croissance en milieu LB des souches AG2 (bleu), AG2Δ*umuDAb* (orange) et AG2Δ*ddrR* (rose ou violet) sans plasmide (cercle) ou portant les plasmides pWT (triangle) ou pLexA* (carré). Les plasmides portent un IM1 avec un promoteur du gène de l'intégrase PintI1 sauvage pour `pWT et un promoteur PintI1 avec le site de fixation de LexA muté pour pLexA*. * p< 0.05

Nous n'avons pas observé de différence de croissance entre les souches à l'exception de la souche AG2Δ*ddrR* portant le plasmide pLexA* qui a montré une croissance significativement diminuée par rapport à la souche AG2Δ*ddrR* et la souche AG2Δ*umuDAb* portant le plasmide pWT qui présentait un léger retard de croissance en phase exponentielle.

II.3. Quantification des transcrits *intI1*

Les trois souches de *A. baumannii* AG2 (souche sauvage et mutants de délétions AG2Δ*umuDAb* et AG2Δ*ddrR*) ont été transformées avec les différentes constructions plasmidiques afin d'étudier l'activité de PintI1 par PCR en temps réel en quantifiant le nombre de transcrits du gène *intI1Y312F* dans les trois fonds génétiques de AG2.

Nous avons rencontré des difficultés lors de l'extraction de l'ARN total des souches portant la construction pLexA*. En effet, nous avons obtenu, à chaque extraction, des ARNs dégradés à partir des cultures des souches AG2 Δ*umuDAb* et AG2 Δ*ddrR* transformées avec pLexA*, rendant impossible la quantification des transcrits. Par conséquent, la mesure de l'expression de *intI1Y312F* n'a donc pu être réalisé, pour pLexA*, que pour la souche AG2 pLexA*. Les

Licence CC BY-NC-ND 4.0

résultats des quantifications du nombre de transcrits du gène *intI1Y312F* sont présentés en ratio du nombre de transcrits normalisé par rapport au nombre de transcrits du gène de ménage *gyrB* dans la **Figure 56**.

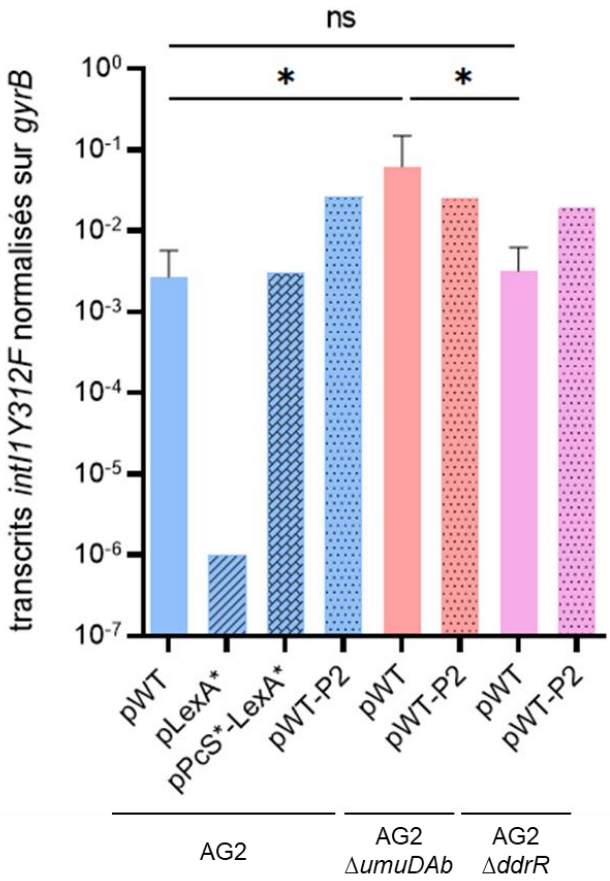


Figure 56 : Activité du promoteur PintI1 dans les différents fonds génétiques de AG2

L'histogramme représente le ratio du nombre de transcrits de *intI1Y312F* sur le nombre de transcrits du gène *gyrB* pour les différentes constructions pWT, pLexA*, pPcS*-LexA* et pWT-P2 dans la souche AG2 (en bleu), AG2Δ*umuDAb* (en orange) et AG2Δ*ddrR* (en rose). Les barres d'erreurs indiquent les écarts-types d'au minimum trois quantifications indépendantes pour le pWT dans les trois fonds génétiques avec chaque quantification correspondant à la moyenne d'une mesure réalisée en triplicat (triplicat technique). Les statistiques de significativité ont été estimées par t-test avec * p<0,05. Pour les conditions pLexA*, pPcS*-LexA* et pWT-P2, la mesure n'a été obtenue qu'à partir d'un seul triplicat technique.

Si l'on compare tout d'abord l'activité du promoteur PintI1 exprimée en ratio de transcrits de *intI1Y312F* dans les trois fonds génétiques de la souche de *A. baumannii* AG2 portant le pWT, nous observons une augmentation significative de 18 fois de l'expression de *intI1Y312F* chez AG2Δ*umuDAb* et pas de différence chez AG2Δ*ddrR* par rapport à la souche AG2 sauvage. Ces résultats sont en concordance avec les résultats de gel retard qui montrent que UmuDAb peut se fixer sur le promoteur PintI1. L'absence de UmuDAb chez la souche délétée du gène *umuDAb*, libèrerait l'expression du gène de l'intégrase se traduisant par une augmentation du nombre de transcrits *intI1Y312F*. Ces résultats indiquent d'autre part que DdrR ne jouerait pas de rôle dans la régulation de l'expression de l'intégrase.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Si l'on compare ensuite l'activité du promoteur PintI1 chez la souche AG2 en fonction de la construction plasmidique, nous observons une surprenante diminution de 13 400 fois du nombre de transcrits *intI1Y312F* lorsque le site de fixation de LexA est muté (pLexA*) par rapport à la construction sauvage pWT. Ces résultats sont en complet désaccord avec les résultats préliminaires obtenus au laboratoire avec la souche de *A. baumannii* CM152 et nos résultats de gels retard qui suggéraient qu'une mutation de la boite LexA empêcherait la fixation de UmuDAb et donc entraînerait une augmentation du nombre de transcrits de *intI1Y312F*. Cependant, il n'y a pas de différence majeure du nombre de transcrits *intI1Y312F* chez la souche AG2 pPcS*-LexA* et une tendance à l'augmentation du nombre de transcrits de *intI1Y312F* chez la souche AG2 pWT-P2 (mutation naturelle de la boite LexA dû à l'insertion de 3G créant le promoteur P2) par rapport à la souche portant le pWT. Cette dernière suggère que la mutation de la boite LexA par P2 permettrait la dérépression de PintI1 chez AG2. Toutefois, il est a noté que les mesures avec les plasmides pLexA*, pPcS*-LexA* et pWT-P2 n'ont été effectuées qu'une fois, ne nous permettant pas de conclure sur une possible significativité.

Si l'on compare maintenant, l'activité de PintI1 chez les mutants AG2 Δ*umuDAb* et AG2 Δ*ddrR*, portant le pWT-P2 par rapport au pWT, nous n'observons pas de différence pour le mutant de délétion *umuDAb* et une tendance à l'augmentation pour AG2Δ*ddrR.* Pour la souche AG2Δ*umuDAb*, les résultats semblent confirmer le rôle de UmuDAb en tant que répresseur de l'activité de PintI1. Pour la souche AG2Δ*ddrR*, l'augmentation potentielle observée avec la construction pWT-P2 par rapport à pWT et similaire à celle observée avec la souche AG2 pWT-P2, confirmant la dérépression de PintI1 dans cette construction plasmidique. Cependant les expériences n'ont été réalisés qu'en simplicat ne nous permettant pas, encore une fois, de réellement conclure sur une significativité des résultats.

N'arrivant pas à expliquer les résultats obtenus avec le plasmide pLexA* chez la souche AG2 (le plasmide a été vérifié par séquençage Sanger et les souches AG2 pWT et AG2 pLexA* poussent de façon similaire (**Figure 55**), et ne comprenant pas pourquoi nous n'arrivions pas à purifier les ARN des souches AG2Δ*umudAb* pLexA* et AG2Δ*ddrR* pLexA*, nous avons décidé d'estimer l'activité de PintI1 avec les plasmides utilisés lors de l'obtention des premiers résultats chez CM152, i.e. des plasmides dans lesquels PintI1 est en fusion transcriptionnelle avec le gène *uidA*.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

II.4. Quantification des transcrits *uidA*

Les souches AG2, AG2Δ*umuDAb* et AG2Δ*ddrR* ont été transformées avec les constructions plasmidiques pPcS et pLexA*-OriA (**Figure 57**).

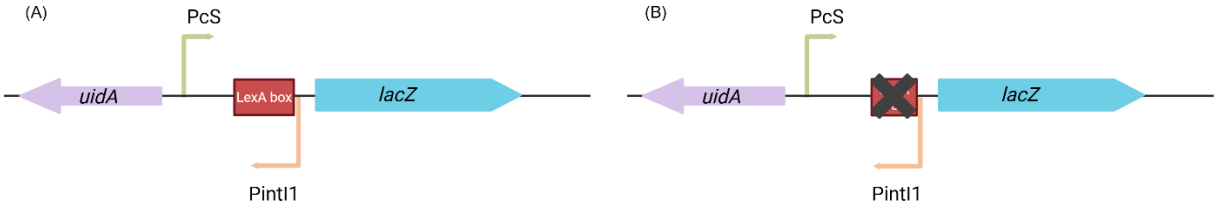


Figure 57 : Représentation schématique des constructions en fusion transcriptionnelle PintI1-*uidA*

Dans ces constructions, les régions promotrices d'un IM1 ont été clonées de telle sorte que le promoteur PintI1 (flèche verte) soit en fusion transcriptionnelle avec le gène rapporteur *uidA* (violet) et le PcS (flèche orange) en fusion traductionnelle avec le gène rapporteur *lacZ* (bleu). La boite LexA est indiquée par un carré rouge.
A) pPcS : construction avec PintI1 sauvage ; B) pLexA*-OriA : construction dans laquelle le site de fixation de LexA est muté (expression constitutive de PintI1 chez *E. coli*). Créée sur https://BioRender.com

Comme précédemment nous avons vérifiés que les mutations de délétion et les constructions plasmidiques n'avaient pas d'effet majeurs sur la croissance de notre souche. Nous avons donc déterminé la courbe de croissance de nos trois souches sans plasmide ou bien avec les plasmides pPcS ou pLexA*-OriA dont les courbes obtenues sont présentées dans la **Figure 58**.

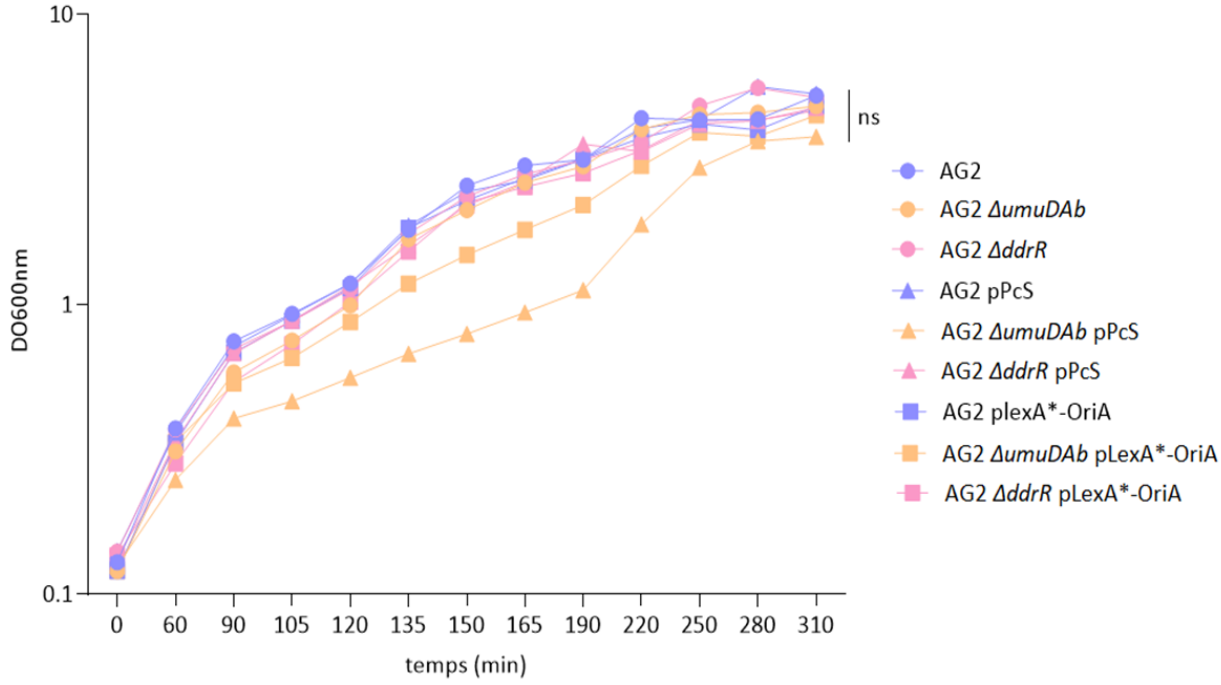


Figure 58 : Effet de la délétion des gènes *umuDAb* et *ddrR* et des plasmides contenant pPcS et pLexA*-OriA sur la croissance de la souche de *A. baumannii* AG2

Courbe de croissance en milieu LB des souches AG2 (violet), AG2Δ*umuDAb* (orange) et AG2Δ*ddrR* (rose) sans plasmide (cercle) ou portant les plasmides pPcS (triangle) ou pLexA*-OriA (carré). pPcS contient le promoteur sauvage du gène de l'intégrase, PintI1, en fusion transcriptionnelle avec le gène rapporteur *uidA*. Dans pLexA*-OriA, le promoteur PintI1 porte une mutation dans le site de fixation de LexA.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Les résultats montrent qu'il n'y avait pas de différence significative de croissance entre les souches bien que la souche AG2Δ*umuDAb* pPcS présentait un léger retard de croissance lors de la phase exponentielle.

Les résultats de l'estimation de l'activité de PintI1 par PCR en temps réel en quantifiant le nombre de transcrits du gène rapporteur *uidA* en fusion transcriptionnelle avec le PintI1 sont présentés **Figure 59**.

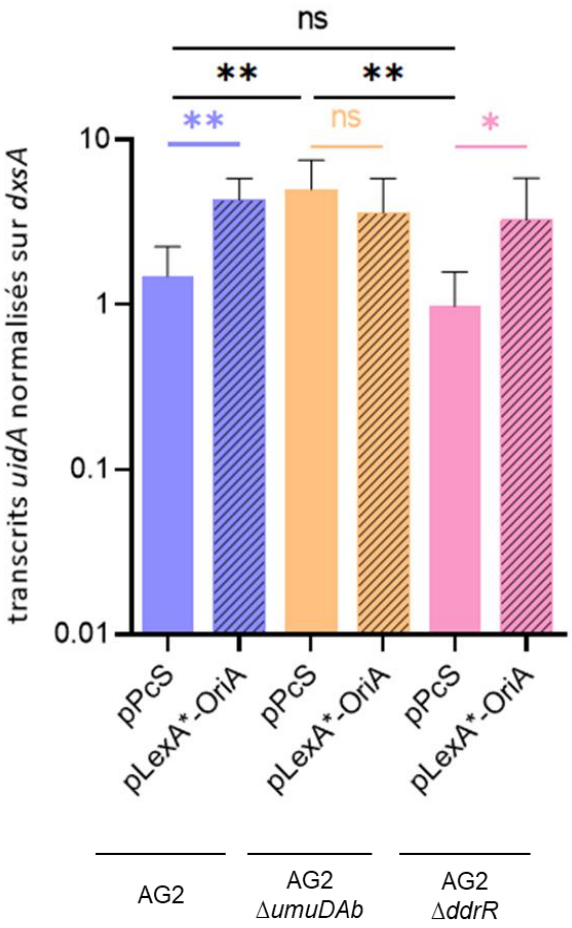


Figure 59 : Activité du promoteur PintI1 dans les différents fonds génétiques de AG2 portant plamsides pPcS et pLexA*-OriA

Les histogrammes représentent le ratio du nombre de transcrits de *uidA* sur le nombre de transcrits du gène *dxsA* pour les différentes constructions pPcS et pLexA*-OriA dans la souche AG2 (en violet), AG2Δ*umuDAb* (en orange) et AG2Δ*ddrR* (en rose). Les barres d'erreurs indiquent les écarts-types d'au minimum trois quantifications indépendantes dans les trois fonds génétiques, avec chaque quantification correspondant à la moyenne d'une mesure réalisée en triplicat (triplicat technique). Les statistiques de significativité ont été estimées par T-test (* p<0,05 et ** p<0,01).

Comme observé pour le plasmide pWT avec le gène *intI1Y312F*, le nombre de transcrits de *uidA* ne varie pas entre les souches AG2 et AG2Δ*ddrR* portant le plasmide pPcS, mais il augmente de façon significative de 2,7 à 4 fois chez la souche AG2Δ*umuDAb* pPcS. Ces résultats confirment les résultats précédents, à savoir que UmuDAb régulerait l'expression de PintI1 mais pas DdrR. Contrairement à ce que nous avons observé avec AG2 pLexA*, le

Licence CC BY-NC-ND 4.0

nombre de transcrits *uidA* chez la souche AG2 pLexA*-OriA augmente de façon significative (2,5 fois) par rapport à la souche AG2 pPcS. Une augmentation similaire est observée pour la souche AG2Δ*ddrR* pLexA*-OriA par rapport à la souche AG2Δ*ddrR* pPcS, mais il n'existe pas de différence significative du nombre de transcrits *uidA* entre les souches AG2Δ*umuDAb* pLexA*-OriA et AG2Δ*umuDAb* pPcS. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus avec les données préliminaires et notre hypothèse de départ. (**Figure 59**).

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Conclusion

Nous avions émis l'hypothèse que UmuDAb, le régulateur de la réponse aux dommages de l'ADN chez *A. baumannii* pourrait réguler l'expression du gène de l'intégrase *intI1* d'IM1 au vu de son homologie structurelle avec le régulateur de la réponse SOS, LexA.
Les résultats des expériences de retard sur gel ont i) confirmé la capacité de la protéine UmuDAb à se fixer sur la région promotrice de *intI1 ;* ii) montré que cette fixation dépendait du site de fixation de la protéine LexA, la protéine UmuDAb n'étant pas capable de se fixer sur la boite LexA lorsque celle-ci est mutée ; iii) montré que l'affinité de UmuDAb pour la boite LexA est nettement plus faible que celle pour son propre site de fixation, la concentration de UmuDAb nécessaire pour obtenir un retard de *PintI1* étant supérieure à celle nécessaire pour pouvoir retarder P*umuDAb* ; iv) la stœchiométrie des protéines UmuDAb et LexA en complexe avec P*intI1* semble différente, les complexes UmuDAb-*PintI1* et LexA-*PintI1* ne migrant pas à la même taille.

La capacité de UmuDAb à se fixer sur le promoteur PintI1 via la boite LexA indique donc que UmuDAb pourrait réprimer l'expression de *intI1* chez *A. baummannii* et qu'une mutation de la boite LexA permettrait une dérépression de PintI1 chez cette espèce, comme observé chez *E. coli* où l'activité de PintI1 est réprimée par LexA.
C'est exactement ce qu'ont montré nos expériences de RT-qPCR. En effet, l'activité du promoteur PintI1 est en moyenne 2,6 fois plus élevée chez le mutant de délétion *umuDAb* que chez la souche sauvage de *A. baummannii* AG2 quelle que soit la construction plasmidique utilisée (pPcS ou pLexA*-OriA). De plus, une mutation de la boite LexA, par mutation d'un des palindromes conservés (construction pLexA*-OriA), entraine une augmentation significative de l'activité du PintI1 chez la souche AG2 sauvage (de 2,5 fois), mais pas chez la souche AG2Δ*umuDAb*, dû au fait que la répression était déjà levée en l'absence de la protéine UmuDAb.

Chez *A. baumannii,* la protéine DdrR a été décrite comme interagissant avec la protéine UmuDAb afin de favoriser la répression des gènes régulés par UmuDAb (Pavlin et al., 2022b). Une délétion du gène *ddrR* dans la souche AG2 n'a pas montré d'impact sur l'activité de PintI1 (même nombre de transcrits *intI1Y312F* ou *uidA* chez les souches AG2 et AG2Δ*ddrR* portant le plasmide pWT ou pPcS respectivement). Une mutation de la boite LexA chez la souche AG2Δ*ddrR* induisait une augmentation de l'activité de PintI1 comme celle observée chez la souche AG2 sauvage. Ces résultats suggèrent donc que la protéine DdrR ne jouerait pas de rôle dans la régulation de l'expression du gène de l'intégrase d'IM1 chez *A. baumannii* et que seul le régulateur UmuDAb aurait un rôle de répresseur.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Lors de nos expériences nous avons rencontrés des difficultés et eu des résultats très surprenants avec le plasmide pLexA* avec lequel nous avons observé une forte diminution du nombre de transcrit *intI1Y312F* chez la souche AG2 par rapport à la souche AG2 pWT. Ces résultats vont complètement à l'encontre de notre hypothèse et des autres résultats obtenus que ce soit les expériences de retards sur gel ou RT-qPCR avec les plasmides pWT-P2 ou pLexA*-OriA. Ces différences de résultats au sein de la souche AG2 entre les plasmides portant un intégron naturel (pLexA*) et ceux en fusion transcriptionnelle (pLexA*-OriA) sont surprenantes et nécessitent d'autres études afin de mieux comprendre quel phénomène biologique pourrait interférer au sein de notre souche.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Discussion

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Niche écologique de *Acinetobacter spp.*

La première partie de notre étude visait à identifier les niches écologiques des espèces de *Acinetobacter spp*. en s'appuyant sur le concept One-Health. En effet, bien que les espèces de ce genre soient considérées comme ubiquistes du fait de leur présence au sein d'environnements variés (médecine humaine et vétérinaire ainsi qu'au sein d'environnements naturels) (Adewoyin & Okoh, 2018; Al Atrouni, Hamze, et al., 2016) les espèces non-*baumannii* restent peu étudiées.

Nous avons donc étudié la distribution des souches de *Acinetobacter spp*. selon le **concept One-Health** avec différentes approches : (i) épidémiologique, combinant une collection biologique et des données microbiologiques de laboratoires d'analyses médicale de CHU, (ii) écologique, avec l'analyse de *Acinetobacter* selon un continuum allant du patient infecté et de son environnement clinique, à la rivière en passant par les eaux usées hospitalières et la STEP et, (iii) clinique, avec la description d'une épidémie à CRA*b* au CHU de Bordeaux.
Ces différentes approches nous ont permis de mettre en évidence un tropisme de distribution des espèces du genre *Acinetobacter* selon leur réservoir, ou compartiment d'origine.

Tout d'abord, les souches isolées en **clinique humaine** appartenaient généralement aux espèces du complexe *Acb* (composé des espèces *A. baumannii, A. pittii, A. calcoaceticus, A. nosocomialis, A. seifertii* et *A. lactucae*) et représentaient autour de 70% quelle que soit l'étude (collection biologique, les données de laboratoire des CHU et l'étude du continuum). Ces résultats sont en corrélation avec la littérature selon laquelle la prévalence du complexe *Acb* en clinique humaine oscille entre 40 et plus de 80% selon les études (Gashgarey et al., 2025; Lasarte-Monterrubio et al., 2024; Thomsen et al., 2024). Au sein même du complexe *Acb*, la majorité des isolats appartenaient aux espèces *A. baumannii* et *A. pittii* qui représentaient en moyenne, selon nos différentes études, respectivement 38% et 22% des souches. Le pourcentage de *A. baumannii* isolés dans des CHUs de Limoges et de Bordeaux était inférieur à ce qui est rapporté dans la littérature où cette espèce représente généralement jusqu'à 60% des isolats de *Acinetobacter spp* dans les prélèvements cliniques (Lasarte-Monterrubio et al., 2024; Wisplinghoff et al., 2012). Concernant *A. pittii*, le pourcentage d'isolats variait entre 7% et 30% dans nos études, proche des données de la littérature (entre 8 et 14%) en ce qui concerne les souches isolées en clinique humaine (Lasarte-Monterrubio et al., 2024; Wisplinghoff et al., 2012). Enfin, de façon surprenante, la troisième espèce la plus isolées n'était pas *A. nosocomialis* (comme décrit généralement) mais *A. ursingii*, représentant près de 15% des isolats et principalement identifiée au sein d'hémoculture. Cette espèce est devenue, ces dernières années, un pathogène émergent connu pour être principalement responsable de bactériémie mais reste, cependant, rarement décrit dans les cas d'infections

Licence CC BY-NC-ND 4.0

humaines avec des études rapportant une prévalence faible (entre 1,5 et 10%) (Chiu et al., 2015; Dortet et al., 2006). De manière intéressante, la prévalence de *A. ursingii* était différente entre le CHU de Limoges et celui de Bordeaux. Cette espèce représentait près de 18% des souches isolées au CHU de Limoges et seulement 7% au CHU de Bordeaux, soit moins de la moitié, indiquant une épidémiologie différente entre ces deux centres hospitaliers de la même région. La prévalence de *A. ursingii* au CHU de Bordeaux était plus proche de ce qui est décrit dans la littérature. En revanche cette espèce, au CHU de Limoges, a présenté une évolution surprenante avec une proportion qui a quasiment doublé en 10 ans (12% à 20%) tous prélèvements microbiologiques confondus et dans les deux CHUs, sa proportion est presque équivalente à celle du complexe *Acb* dans les hémocultures (autour de 25%) ce qui en fait la première espèce responsable de bactériémies.
De plus, si l'on s'intéresse plus particulièrement à la distribution des espèces de *Acinetobacter spp*. selon le type de prélèvements, on s'aperçoit que, pour les hémocultures, la part des espèces n'appartenant pas au complexe *Acb* est plus importante que celles des espèces du complexe et représentait près de 55% des souches isolées. Cependant nous remarquons l'inverse pour les prélèvements respiratoires pour lesquels la part des espèces n'appartenant pas au complexe *Acb* n'est que de 25% en moyenne suggérant une distribution différente des espèces au sein du compartiment « clinique » selon le type de prélèvement.

En ce qui concerne les souches isolées chez les **animaux**, notre collection était caractérisée par une forte proportion d'isolats appartenant aux espèces *A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii* qui représentaient 36 et 18% des souches respectivement. *A. baumannii* ne représentait que 9% des isolats bien qu'étant décrite comme fréquemment isolée en médecine vétérinaire (Mellace et al., 2024; van der Kolk et al., 2019). Cette différence, entre notre étude et la littérature, vient probablement du fait que nos souches ont majoritairement été isolées à partir de fèces et de prélèvements génitaux (considérées alors comme du portage) et très peu de prélèvements d'infection.
Une étude effectuée sur des souches isolées de lésions chez les chevaux, a mis en évidence que près de 23% des isolats étaient des *A. lwoffii* (Bzdil et al., 2018). De plus, une étude récente de Sladecek et collaborateurs, visant à estimer la proportion de *Acinetobacter spp*. isolés à partir d'animaux de ferme, a rapporté une prédominance de *A. pseudolwoffii* (23%), de *A. lwoffii* (19%) et de *A. pittii* (16%) parmi les isolats de *Acinetobacter spp*. (Sladecek et al., 2023). Ces résultats sont donc en corrélation avec notre étude. De plus, nous rapportons une forte proportion de souches isolées de prélèvements effectués sur les équins et plus particulièrement de prélèvements génitaux et urinaires. Ces derniers représentaient 13% des isolats totaux et près de 44% des souches isolées exclusivement chez les équins. Par ailleurs, 60% des souches isolées chez les équidés étaient des *A. lwoffii*. Ces résultats concordent

Licence CC BY-NC-ND 4.0

avec ceux d'une étude rétrospective, publiée en 2024, effectuée sur des animaux de compagnies rapportant que, sur 134 souches isolées à partir de prélèvements de chevaux, (i) 50% étaient des *A. lwoffii* et (ii) 48% avaient été isolées de prélèvements uro-génitaux (Attili et al., 2024). Enfin, de façon intéressante, nous avons mis en évidence la présence de *Acinetobacter spp*. dans 27% de nos échantillons de fèces représentant près de 28% des souches isolées de la collection « animale », dont 48% de souches de *A. lwoffii*. Contrairement à la grande majorité des études effectuées sur *Acinetobacter spp*. qui se focalisent sur *A. baumannii*, notre étude décrit, pour la première fois, la prévalence de *Acinetobacter,* toutes espèces confondues, isolées au sein de prélèvements fécaux d'animaux mettant en avant une forte proportion d'échantillons positifs ainsi qu'une grande diversité au niveau des espèces.

Concernant les souches de la collection provenant de **l'environnement** (échantillons de terre et d'eau), les résultats font ressortir plusieurs choses. Tout d'abord, bien qu'il soit souligné dans la littérature une influence des facteurs climatiques sur la distribution des souches, nous n'avons pas vu d'impact de la saison sur la présence de *Acinetobacter spp*. (Benoit et al., 2024). Notamment, pour les prélèvements réalisés au cours de l'analyse du continuum patient-rivière, les deux campagnes de prélèvements ont été conduites en hiver soit en « période pluvieuse » et en été c'est-à-dire en « période sèche », aucune différence notable n'a été identifiée tant sur la quantité de souches que sur le type d'espèces isolées. Il en était de même pour les autres prélèvements de terre et d'eau réalisés autour du Limoges. Cependant il est à noter, que les études que nous avons conduites portaient sur le genre *Acinetobacter*, alors que l'étude rapportant une saisonnalité portait sur la prévalence des espèces du complexe *Acb* uniquement (Benoit et al., 2024). De plus, mis à part les prélèvements d'eau effectués dans la rivière Vienne dans la ville de Limoges (environnement fortement anthropisé), nous n'avons pas mis en évidence d'impact de la pression anthropique sur la présence de *Acinetobacter* dans nos prélèvement environnementaux. Enfin, nos différentes approches font ressortir la présence de deux espèces majoritaires au sein de l'environnement : *A. johnsonii* et *A. bohemicus* qui représentaient respectivement 36 et 13% des isolats environnementaux tous prélèvements confondus. De plus, dans les effluents hospitaliers et les prélèvements effectués au niveau de la STEP, l'espèce majoritaire était *A. johnsonii* qui représentait respectivement 51% et 68% des souches isolées. Si l'on regarde la prévalence de ces deux espèces par type de prélèvements, *A. johnsonii* représentait 25% des souches isolées de la terre et 45% à 80% (en fonction des approches) des souches isolées d'eau alors que *A. bohemicus* représentait 16% des isolats retrouvés dans la terre et 10% de ceux identifiés à partir des échantillons d'eau. Ces résultats montrent que la distribution des espèces au sein de ces deux compartiments environnementaux (eau et terre) est différente, suggérant que ces deux compartiments pourraient être étudiés séparement dans de futures études.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Enfin, une partie de notre collection concernait des souches isolées de **l'environnement clinique** (siphons d'éviers et de douches majoritairement) de patients infectés ou porteurs d'une souche de *Acinetobacter spp*. et hospitalisés au CHU de Limoges, des effluents hospitaliers du CHU ainsi que de la STEP de la ville de Limoges. Cela a permis de mettre en évidence qu'au sein de l'environnement clinique des patients *A. ursingii* et *A. johnsonii* étaient les espèces majoritairement isolées, représentant respectivement 35 et 33% des isolats, suivi de *A. pitti* (16%), représentant un mélange d'espèces à tropisme plutôt clinique humaine (*A. ursingii* et *A. pittii*) et à tropisme plutôt environnemental (*A. johnsonii*) selon nos résultats précédents. De surcroît, la proportion de sites prélevés positifs à *Acinetobacter spp*. était de 33%. Cette prévalence est supérieure à ce qui est décrit dans la littérature ou seulement 2,4% des surfaces hospitalière (Blehm et al., 2022) et 19,8% des prélèvements environnementaux (Yusuf et al., 2025) étaient positifs.

Toutes ces données nous permettent de dégager plusieurs informations importantes concernant les possibles niches écologiques des espèces du genre *Acinetobacter spp*.

- Tout d'abord, bien que déjà décrites dans la littérature, les espèces ***A. baumannii*** et ***A. pittii*** (appartenant au complexe *Acb*) sont majoritairement retrouvées dans un contexte clinique. Cependant, nos résultats ont mis en avant une forte proportion de souches de ***A. ursingii*** isolées en clinique humaine, consolidant son rôle en tant que pathogène émergent. Cependant, de manière intéressante, *A. ursingii* était aussi majoritaire au sein de l'environnement clinique des patients, mais n'a pas été identifié au sein des autres compartiments, ce qui pourrait indiquer que l'hôpital joue un rôle de réservoir pour cette espèce.
- Ensuite, nos résultats suggèrent que les animaux jouent un rôle de réservoir pour les espèces de ***A. lwoffii*** et ***A. pseudolwoffi***. En effet ces deux espèces représentaient plus de 50% des souches isolées au sein des animaux alors que la prévalence de *A. lwoffii* n'était que de 3% en clinique humaine et qu'aucune de ces deux espèces n'a été isolée des prélèvements environnementaux.
- Finalement, l'environnement semble constituer une niche écologique pour les souches de ***A. johnsonnii*** dont la prévalence oscille entre 25% et 68% selon l'origine du prélèvement. De plus, ***A. bohemicus*** (une des espèces majoritairement isolées des prélèvements de terre et d'eau de source naturelle) n'a été isolée que de manière sporadique des prélèvements d'effluents hospitaliers et de la STEP indiquant une préférence de cette espèce pour des environnements moins anthropisés.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Transmission de *Acinetobacter* spp.

Notre travail a permis d'objectiver que la part des ***Acinetobacter non-baumannii*** était en augmentation dans les prélèvements de clinique humaine, particulièrement dans les hémocultures. D'autre part, les souches MDR ou XDR que nous avons identifiées étaient des souches de *A. baumannii* mais aussi de *A.* non-*baumannii* soulignant l'importance de ne pas négliger la recherche sur ces espèces en routine.

Toutefois, la transmission épidémique que nous décrivons dans le service de grands brulés du CHU de Bordeaux de *A. baumannii* XDR persistant dans les biofilms de surfaces hospitalières correspond à ce qui est aussi classiquement décrit dans la littérature. Notre étude sur le continuum à partir du patient infecté, a permi d'identifier une **transmission nosocomiale** de *A. pittii* associée à de la **persistance** dans les biofilms de siphons de lavabos. Les données de cette étude mettent en avant un mélange de souches cliniques (*A. ursingii* et *A. pitti*) et environnementales (*A. johnsonii*) au sein de l'environnement clinique, principalement les siphons de lavabos, indiquant que les siphons pourraient jouer un **rôle d'interface** entre les différents écosystèmes dû à la capacité de *Acinetobacter* de disséminer vers l'environnement général via les effluents, mais aussi à revenir vers le patient par rétro-contamination des surfaces proches des siphons par projections de gouttelettes d'eau contaminée lors de l'utilisation des lavabos (Kotay et al., 2019).

La colonisation et la persistance dans l'environnement joue un rôle important dans la possibilité de transmission aux patients. Or, dans nos études nous avons mis en évidence une colonisation plus importante de l'environnement par le genre *Acinetobacter* que ce qui est rapporté dans la littérature, avec 70% de chambres positives autour des patients infectés, et la persistance dans le temps, y compris plusieurs semaines voire mois après le départ des patients, dans les siphons et sur les surfaces cliniques.

Il en est de même pour nos prélèvements environnementaux, en effet, nous avons mis en évidence la présence de *Acinetobacter spp*. dans plus de 70% des sites prélevés et dans près de 66% des échantillons. Ces valeurs sont supérieures à celle décrites dans l'étude de Al Atrouni et collaborateurs qui ont détectés la présence de *Acinetobacter spp*. dans 14% des échantillons environnementaux seulement (prélèvements de sol avec et sans pression anthropique, d'eaux provenant de sources naturelles ainsi que d'eaux usées) (Al Atrouni, Hamze, et al., 2016). Cette différence de taux de positivité pourrait être expliquée par le traitement des échantillons avant ensemencement. Dans leur publication, Al atrouni *et al.* ne détaillent pas le traitement pré analytique de leurs échantillon hormis un enrichissement en bouillon Baumann. Cependant au cours de notre travail, nous avons observé que la conservation à -80°C dans 20% de glycérol des échantillons avait un impact négatif sur la recherche de *Acinetobacter*, les rendant non isolables dans des prélèvements initialement

Licence CC BY-NC-ND 4.0

positifs. D'autre part, même conservés à 4°C, les échantillons ont montré une grande variabilité dans proportion de souches de *Acinetobacter* isolées. Nous avons ainsi mis au point un protocole de traitement de nos échantillons consistant en (i) un ensemencement rapide (en quelques heures) des échantillons sans congélation préalable ni conservation à 4°C et (ii) l'isolement des souches avec un milieu sélectif qui a facilité la détection des espèces de *Acinetobacter*. Ces données soulignent l'importance de l'étape de conservation pré-analytique, d'une méthodologie rigoureuse et réactive pour la détection des espèces de *Acinetobacter.*

Antibiorésistance des souches de *Acinetobacter spp*.

Comme décrit dans la partie bibliographique de ce travail, certaines espèces du genre *Acinetobacter*, et plus particulièrement *A. baumannii*, sont des pathogènes opportunistes majeurs, responsable d'infections graves et souvent associées à un profil de multirésistance aux ATBs (Garnacho-Montero & Amaya-Villar, 2010; Ibrahim et al., 2021). Il est admis que, chez *A. baumannii* principalement, cette résistance est globalement associée à la présence d'IM (Adeniji et al., 2022; Peymani et al., 2012; Ploy et al., 2000; Shaheli et al., 2018).

Nous avons donc commencé cette étude par la caractérisation du profil de résistance des souches en utilisant un panel de 20 ATBs appartenant à 7 familles d'ATB différentes (β-lactamines, aminosides, quinolones, cyclines, sulfamides-diaminopyrimidines, phénicolés et polymyxines). Puis nous avons évalué la proportion des IM1, IM2 et IM3 présents au sein des souches de nos collections.

Tout d'abord, la proportion de souches de ***A. baumannii*** **multirésistantes** aux ATB (MDR et XDR), isolées au CHUs de Limoges et de Bordeaux présentent au sein de notre collection biologique, était plus basse que ce qui est rapporté dans la littérature et représentait seulement 32% des souches. Parmi ces souches 10 % étaient MDR (n=5) et 22% XDR (n=11). Selon une étude récente effectuée en Italie, 89,5% des souches de *A. baumannii* isolées étaient considérées comme MDR (Foglia et al., 2025). Une méta-analyse regroupant 27 pays a mis en évidence que les souches de *A. baumannii* MDR responsables de pneumonies nosocomiales et liées à la ventilation représentaient plus de 79% des isolats. De plus, si l'on s'intéresse plus particulièrement aux souches isolées d'hôpitaux français dans cette méta-analyse, la prévalence des souches MDR était de 91%. (Mohd Sazlly Lim et al., 2019b). Cependant, si l'on analyse nos données par CHU, on s'aperçoit qu'il existe une différence dans la distribution des souches de *A. baumannii* multi-résistantes entre Limoges et Bordeaux. De fait, au CHU de Limoges, seulement 6.5% des souches étaient MDR et 3% XDR alors qu'au CHU de Bordeaux 21% des souches étaient considérées comme MDR et 52% XDR.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Ces résultats mettent en avant une hétérogénéité locale dans la distribution des clones de *A. baumannii* MDR reflétant la variabilité des taux de *A. baumannii* MDR isolées d'un pays à l'autre (European Centre for Disease Prevention and Control. et World Health Organization, 2023). Cette répartition hétérogène pourrait être favorisée par les capacités d'adaptation locales d'*Acinetobacter baumannii* liées à leur plasticité génétique (Valcek et al., 2025).

Parmi la totalité des souches de notre collection « One-Health », douze **IM1** (huit retrouvés chez des souches animales et quatre au sein de souches cliniques) et cinq **IM2** (au sein de souches de CRA*b*) ont été détectés. Aucun IM3 n'a été identifié parmi les souches de la collection. Ainsi dans notre étude, seulement 3% des souches cliniques abritaient un IM1. Cependant, 75% de ces IM1 étaient associés à une souche considérée comme multi-résistantes (MDR ou XDR). Cette valeur est concordante avec ce qui est déjà décrit dans la littérature où la proportion d'IM1 chez des souches MDR oscille entre 40% et 90% selon le contexte clinique. Toutefois, la proportion plus élevée d'IM2 que d'IM1 au sein de notre collection est inhabituelle car plus proche de l'épidémiologie des souches MDR en Amérique du Sud qu'en Europe. (Adeniji et al., 2022; Fonseca et al., 2023; Gonzalez et al., 1998; Ploy et al., 2000). Il est à noter, cependant, que ces souches portant un IM2 étaient liées à une épidémie à CRA*b* dont le point de départ était le rapatriement de soldats d'Afrique de l'Ouest. Enfin, nos résultats sur la proportion d'IM chez des souches isolées des animaux sont les premières données sur la prévalence des intégrons au sein de ce compartiment mettant en lumière une prévalence non-négligeable des IM1 (8,2%). Toutefois, bien que près de 10% des souches « animales » étaient MDR, aucun de ces IM1 n'a été détecté au sein de souches présentant un profil de multirésistance.

Nous avons réalisé un focus sur les souches de ***A. baumannii*** de notre étude qui ont été isolées au sein des différents compartiments afin de pouvoir comparer nos résultats à ce qui est déjà connu sur cette espèce.
Afin d'identifier la dissémination des souches isolées au sein de notre étude nous avons analysé la **clonalité** en utilisant la technique d'ERIC-PCR qui est basée sur l'amplification par PCR de séquences répétées dispersées au sein du génome. Cela nous a permis de mettre en évidence que la majorité des clones de *A. baumannii* de notre collection présentaient un typage unique. Cependant certains clones partagés existaient, notamment un clone commun présentant deux sous-types, détectés chez trois patients hospitalisés au CHU de Bordeaux dans le même service. Ces trois souches étaient CR et possédaient un IM2 tout comme deux autres souches de Bordeaux.
Au sein de notre collection de *A. baumannii*, 32% des souches isolées en « clinique » et 11,1% (n=1) des souches « animales » contenaient un intégron. Cependant aucun IM n'a été détecté

Licence CC BY-NC-ND 4.0

au sein des souches « environnementales ». De manière intéressante la totalité des **IMs** identifiés en clinique étaient associés à des souches possédant des profils de multirésistance mais seulement 43,75% des souches multi-résistantes portaient un IM. Cette valeur est plus faible que celles indiquées dans la littérature avec des études rapportant des prévalences d'IMs variant entre 80% et > 90% des souches de *A. baumannii* MDR (Peymani et al., 2012; Ploy et al., 2000).

Il est connu que la **transformation naturelle** joue un rôle majeur dans l'évolution ainsi que dans l'adaptation de *A. baumannii* en facilitant l'acquisition de nouveaux GRAs. Nous avons donc testé la capacité de transformation naturelle de chacune des souches de *A. baumannii* présentes dans notre collection. Nous rapportons une forte proportion de souches transformables (63,3%) avec 64% des souches cliniques, 55% des souches animales et 50% des souches environnementales. Cette capacitée de transformation naturelle est bien documentée chez *A. baumannii* avec un taux élevé de transformabilité chez les souches hospitalières dont les souches MDR favorisant ainsi la dissémination rapide de la résistance dans des environnements médicaux (Vesel et al., 2023). Cela concorde avec nos résultats, où la majorité des souches MDR et XDR étaient transformables (80% et 70% respectivement), dont 100% des souches possédant un IM2. Cependant les fréquences de transformation des souches XDR étaient significativement plus faibles que celles des souches MDR ou S (8.10^{-7} contre 8.10^{-4}). Cependant la multirésistance chez A*. baumannii* a été associée à la présence d'îlots de résistance tels que les AbaR ; ces îlots sont généralement intégrés au niveau du gène *comM* impliqué dans le mécanisme de transformation naturelle et perturbent ainsi les capacités de transformation des souches (Godeux et al., 2020; Tuffet et al., 2024). Ainsi, soit, au sein des isolats XDR, la présence d'un AbaR conduirait à une diminution de la fréquence de transformation des souches, soit la multirésistance chez les isolats de notre collection capables de transformation naturelle ne vient pas de l'insertion d'un AbaR mais peut-être de l'acquisition d'autres EGM tels que des plasmides, des transposons ou bien d'autres types de RI.

Régulation de l'intégrase des intégrons de classe 1 chez *A. baumannii*

Il a été démontré, au sein de notre laboratoire, qu'il existe une régulation de l'expression de l'intégrase des IM1 par la protéine LexA, répresseur central de la réponse SOS suite aux dommages de l'ADN. Pour rappel, chez *E. coli* LexA est impliquée dans la régulation de l'expression du gène *intI1* via sa liaison à la boîte LexA (composée d'un motif palindromique de 16bp : 5'-CTGT-N8-ACAG-3') située au niveau du promoteur PintI1 (Guerin et al., 2009). La protéine UmuDAb, quant a elle, possède un rôle de régulateur en se fixant au niveau de son site de fixation (composé de deux bars palindromiques entourant le site cœur 5'-TTGA-N4-GTAAC-N4-TCAA-3'). Toutefois, UmuDAb et LexA, possèdent un poids moléculaire (24

Licence CC BY-NC-ND 4.0

KDa), une structure et une fonction quasi-similaire (Witkowski et al., 2016). Ainsi nous avions comme hypothèse de départ que, du fait des similarités de structure et de fonction entre les deux protéines, UmuDAb pourrait se fixer sur la boîte LexA régulant ainsi l'expression de l'intégrase d'intégrons chez *A. baumannii*.

Interaction de la protéine UmuDAb avec la boîte LexA

Nous avons débuté notre travail expérimental par l'étude la fixation de la protéine UmuDAb sur la boîte LexA située au niveau de la région promotrice du gène *intI1* en réalisant des tests de retard sur gel. Cela nous a permis de confirmer que la **protéine UmuDAb était capable de se fixer sur la région promotrice de *intI1*** mais aussi que cette fixation était spécifique à la boîte LexA, car une mutation au niveau du site de fixation de la protéine LexA empêchait aussi la fixation de UmuDAb. Cependant, cette fixation nécessitait une plus forte concentration en protéine UmuDAb par rapport à la fixation de UmuDAb sur son propre site indiquant une affinité moindre pour *PintI1* ou bien une interaction protéine-ADNdb moins stable.
De manière intéressante, le complexe formé par la protéine UmuDAb fixée sur *PintI1* migrait moins loin que celui formé par LexA sur *PintI1* suggérant une stœchiométrie différente. Cette différence suggère que deux dimères de UmuDAb pourraient se fixer sur la région promotrice de *intI1* résultant en l'alourdissement du complexe qui migrerait donc moins loin dans le gel ce que suggère une étude récente (Candra et al., 2024). Dans cet article, une légère bande retardée de poids moléculaire plus élevé était présente lorsque les auteurs utilisaient le site de fixation de la protéine UmuDAb non-muté, bande qui n'était pas visible avec un site muté au niveau du bras gauche, suggérant la présence d'un double dimère fixé (Candra et al., 2024). Cependant, lors de nos tests de retard sur gel, nous n'avons pas visualisé ce double retard avec la protéine UmuDAb sur son promoteur *PumuDAb*. Toutefois, il est à noter que, la méthodologie différait entre les deux études pouvant expliquer cette différence de résultat. En effet, dans notre étude nous avons utilisé un intercalant de l'ADN (SYBR Green) pour révéler les retards sur gel, alors que la technique utilisée dans l'étude de Candra et collaborateurs impliquait de l'ADN marqué, technique plus sensible que la nôtre.

Quoi qu'il en soit, nos résultats démontrent la capacité de UmuDAb à se fixer sur la boîte LexA mais aussi que cette répression pourrait être levée par une mutation au niveau de la boîte LexA comme cela a été observé chez *E. coli* (Guerin et al., 2009). Ainsi UmuDAb pourrait exercer un rôle similaire à celui de LexA dans la modulation de l'expression de l'intégrase des IM1 chez *A. baumannii*

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Régulation de l'expression du gène de l'intégrase d'un intégron de classe 1 chez *A. baumannii*

Pour valider le rôle régulateur de la protéine UmuDAb sur l'activité du promoteur du gène de l'intégrase PintI1, et étudier l'implication potentielle de DdrR, nous avons réalisé des expériences de RT-qPCR avec une souche de *A. baumannii* clinique, AG2 et ses dérivés AG2Δ*ddrR* et AG2Δ*umuDAb* (mutants de délétions pour les gènes *ddrR* et *umuDAb* respectivement). Ces souches portaient des plasmides portant soit, la région promotrice d'un IM1 dans sa conformation naturelle (pWT/ pPcS), soit une mutation au niveau du site de fixation de la protéine LexA (pLexA*/ pLexA*-OriA).

Dans un premier temps, nous avons utilisé des constructions plasmidiques composées d'un IM1 dans sa conformation naturelle, c'est-à-dire composé de la plateforme fonctionnelle portant le gène de l'intégrase muté *intI1Y312F* (empêchant le réarrangement des CG) ainsi qu'un réseau de quatre CGs avec *aadA1* en première position. Nous avons observé une augmentation de l'expression du gène de l'intégrase chez la souche AG2Δ*umuDAb* par rapport à la souche WT, résultats suggérant une activité de répression par la protéine UmumDAb en relation avec un site de fixation pour la protéine LexA fonctionnel. Cependant avec la souche AG2 portant le pLexA* nous avons obtenus une forte diminution du nombre de transcrits du gène *intI1Y312F* ce qui était en contradiction avec les résultats précédents.

Ces premiers résultats non concluants nous ont motivé à changer de stratégie. Nous avons donc utilisé les constructions plasmidiques utilisées dans les études préliminaires de ce travail. Ces constructions portent le gène rapporteur *uidA* en fusion transcriptionnelle avec le promoteur PintI1. Avec ces constructions, nous avons montré une augmentation de l'activité du promoteur PintI1 (de 2,6 fois) lorsque le gène *umuDAb* était délété, et ce, quelle que soit la construction plasmidique utilisée (pPcS ou pLexA*-OriA). De plus, nous avons observé que, chez la souche sauvage AG2, la mutation du site de fixation de la protéine LexA, au niveau d'un des palindromes conservés, entraînait aussi une augmentation significative de l'activité de PintI1 de près de 2,5 fois. Ces éléments confirment un **rôle répresseur de la protéine UmuDAb** lorsque la séquence de fixation pour la protéine LexA est fonctionnelle. Cela corrobore les résultats de retard sur gel montrant une fixation de la protéine UmuDAb sur le site de fixation fonctionnel de LexA.

De plus, chez *A. baumannii*, la protéine DdrR a été décrite comme un co-régulateur de la réponse aux dommages de l'ADN en interagissant avec UmuDAb permettant ainsi de favoriser la répression des gènes régulés par UmuDAb en améliorant la liaison de UmuADb à son site de fixation (Candra et al., 2024; Pavlin et al., 2022b). Dans notre étude, aucun impact de la délétion du gène *ddrR* n'a été observé sur l'activité de PintI1 au sein de la souche AG2. De plus, aucune différence significative n'a été observée entre les souches AG2 et AGΔ*ddrR* avec

Licence CC BY-NC-ND 4.0

nos constructions plasmidiques. En outre, tout comme chez la souche AG2, une mutation de la boîte LexA chez la souche AGΔ*ddrR* induisait une augmentation significative de l'activité de PintI1. Ces résultats ont été obtenus aussi bien avec les plasmides portant un IM1 dans sa conformation naturelle qu'avec ceux dont le gène *uidA* était fusion transcriptionnelle avec PintI1. Cela suggère que la protéine DdrR ne serait pas impliquée dans la régulation de l'expression de *intI1* chez *A. baumannii*. Cependant, il pourrait être intéressant de tester par retard sur gel, si la présence de DdrR pouvait avoir un rôle de co-régulateur en améliorant la fixation de UmuDAb sur la boîte LexA, réduisant ainsi la concentration de protéine UmuDAb nécessaire pour retarder PintI1.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Conclusion et Perspectives

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Nous avons conduit une étude épidémiologique large déclinée selon le concept One-Heath nous permettant de conclure qu'il existe un tropisme de distribution des espèces du genre *Acinetobacter* selon le compartiment, identifiant la niche écologique et les réservoirs de certaines espèces telles que *A. baumannii, A. ursingii, A. lwoffii* et *A. pseudolwoffii, A. johnsonii* ou encore *A. bohemicus*. Nous avons aussi mis en évidence une part croissante les *Acinetobacter* non-*baumannii* en clinique, particulièrement *A. ursingii* dans les bactériémies, pouvant être associée à de la multirésistance et de la transmission nosocomiale. Cette observation souligne l'importance d'étudier aussi ces espèces, notamment au niveau des réservoirs, comme les siphons hospitaliers permettant de faire l'interface entre les compartiments écologiques.

Nous avons aussi souligné, d'une part, que les profils de sensibilité des souches variaient à la marge entre les différents compartiments et, d'autre part, que les souches cliniques isolées au sein des CHUs de Limoges et de Bordeaux présentaient des profils plus sensibles que ce qui est décrit dans la littérature, profils néanmoins différents entre les deux CHUs, dénotant de l'adaptation locale des souches d'*Acinetobacter*.

De plus nos travaux sur la régulation des IM1 nous ont permis de confirmer notre hypothèse de départ que la protéine UmuDAb recrutée lors de la réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter*, a la capacité de se fixer au niveau de la boîte LexA fonctionnelle des IM1 et ainsi de réguler l'activité du promoteur PintI1 et de ce fait l'expression du gène *intI1*.

En termes de perspectives pour ce travail de thèse :

- A court terme, nous prévoyions le séquençage du génome entier d'une sélection de souches isolées lors de l'études « One-Health » afin de pouvoir les comparer et déterminer les différences génomiques entre les souches isolées dans chaque compartiment.

- A long terme, nous pourrions, étendre l'aspect « One-Health » de ce travail en augmentant le nombre de souches isolées par compartiment en élargissant la zone de prélèvements

- Nous prévoyions aussi d'ajouter les données cliniques d'autres centres hospitaliers français dans notre analyse de la diversité des espèces de *Acinetobacter spp*. isolées entre le 1er janvier 2014 et le 30 décembre 2024 afin d'avoir un aperçu plus global de la distribution et de la résistance aux antibiotiques des espèces de *Acinetobacter* en France.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

- En ce qui concerne l'étude de la régulation des intégrons de classe 1 chez *A. baumannii*, nous pourrions purifier les protéines DdrR et EppR, connues pour leur rôle de co-régulateurs dans la réponse aux dommages de l'ADN chez *Acinetobacter spp*., afin d'étudier leurs rôles potentiels dans la régulation de l'intégrase des IM1 chez *A. baumannii*.

- Il serait aussi intéressant de (i) construire le mutant de délétion pour le gène *recA* et (ii) d'effectuer la quantification des transcrits du gène *uidA* dans chacun des fonds génétiques portant les plasmides pPcS et pLexA*-OriA après induction de la réponse aux dommages de l'ADN par un agent endommageant tel que la mitomycine C. La souche AG2Δ*recA* nous servirait alors de contrôle lors de l'induction de la réponse aux dommages de l'ADN.

Pour conclure, ce travail permet de mieux comprendre l'écologie et la résistance aux antibiotiques des espèces du genre *Acinetobacter spp*. au sein de la région Nouvelle-Aquitaine. Le deuxième volet de ce travail a permis de mettre en évidence que malgré l'absence du régulateur canonique de l'expression du gène de l'intégrase d'IM1, *A. baumannii* a la capacité de réguler cette expression via UmuDAb, un de ses régulateurs des dommages à l'ADN. Ce travail permet d'élargir les connaissances sur le mécanisme d'action de ce régulateur. Les différents aspects de ce travail mettent en lumière les évolutions écologiques du genre *Acinetobacter* et leur implication dans la transmission et les mécanismes de dissémination de l'antibiorésistance.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Références bibliographiques

Adeniji, Oluwaseun Ola, Elsiddig A. E. Elsheikh, et Anthony Ifeanyin Okoh. 2022. « Prevalence of classes 1 and 2 integrons in multidrug-resistant Acinetobacter baumanni isolates recovered from some aquatic environment in South Africa ». *Scientific Reports* 12: 20319. doi:10.1038/s41598-022-24724-2.

Adewoyin, Mary A., et Anthony I. Okoh. 2018. « The Natural Environment as a Reservoir of Pathogenic and Non-Pathogenic Acinetobacter Species ». *Reviews on Environmental Health* 33(3): 265-72. doi:10.1515/reveh-2017-0034.

Ahmed, Ashraf M., Hiroyuki Nakano, et Tadashi Shimamoto. 2005. « Molecular Characterization of Integrons in Non-Typhoid Salmonella Serovars Isolated in Japan: Description of an Unusual Class 2 Integron ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55(3): 371-74. doi:10.1093/jac/dkh534.

Akoolo, Lavoisier, Silvia Pires, Jisun Kim, et Dane Parker. 2022. « The Capsule of Acinetobacter baumannii Protects against the Innate Immune Response ». *Journal of Innate Immunity* 14(5): 543-54. doi:10.1159/000522232.

Al Atrouni, Ahmad, Monzer Hamze, Rayane Rafei, Matthieu Eveillard, Marie-Laure Joly-Guillou, et Marie Kempf. 2016. « Diversity of Acinetobacter Species Isolated from Different Environments in Lebanon: A Nationwide Study ». *Future Microbiology* 11: 1147-56. doi:10.2217/fmb-2016-0082.

Al Atrouni, Ahmad, Marie-Laure Joly-Guillou, Monzer Hamze, et Marie Kempf. 2016. « Reservoirs of Non-Baumannii Acinetobacter Species ». *Frontiers in Microbiology* 7: 49. doi:10.3389/fmicb.2016.00049.

Al Bayssari, Charbel, Fouad Dabboussi, Monzer Hamze, et Jean-Marc Rolain. 2015. « Emergence of Carbapenemase-Producing Pseudomonas Aeruginosa and Acinetobacter Baumannii in Livestock Animals in Lebanon ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70(3): 950-51. doi:10.1093/jac/dku469.

Alavi-Moghadam, Mostafa, Mirmohammad Miri, Majid Mokhtari, Mehran Kouchek, Reza Goharani, Mohammad Sistanzad, Saeed Safari, et Mehrdad Solouki. 2014. « Incidence of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii in a general intensive care unit (ICU) ». *Caspian Journal of Internal Medicine* 5(3): 186-87.

Amaral, Suélen Cavalheiro, Beatriz Bohns Pruski, Stella Buchhorn de Freitas, Lucas Moreira Dos Santos, et Daiane Drawanz Hartwig. 2023. « Biofilm Formation in Drug-Resistant Acinetobacter Baumannii and Acinetobacter Nosocomialis Isolates Obtained from a University Hospital in Pelotas, RS, Brazil ». *Letters in Applied Microbiology* 76(8): ovad094. doi:10.1093/lambio/ovad094.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Amos, Gregory C A, Emma Gozzard, Charlotte E Carter, Andrew Mead, Mike J Bowes, Peter M Hawkey, Lihong Zhang, et al. 2015. « Validated predictive modelling of the environmental resistome ». *The ISME Journal* 9(6): 1467-76. doi:10.1038/ismej.2014.237.

An, Xin-Li, Olusegun K. Abass, Cai-Xia Zhao, Mei-Rong Xu, Ting Pan, Qiang Pu, Hu Liao, et al. 2022. « Nanopore sequencing analysis of integron gene cassettes in sewages and soils ». *Science of The Total Environment* 817: 152766. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.152766.

Antunes, Luísa C. S., Paolo Visca, et Kevin J. Towner. 2014. « Acinetobacter Baumannii: Evolution of a Global Pathogen ». *Pathogens and Disease* 71(3): 292-301. doi:10.1111/2049-632X.12125.

Arakawa, Y., M. Murakami, K. Suzuki, H. Ito, R. Wacharotayankun, S. Ohsuka, N. Kato, et M. Ohta. 1995. « A Novel Integron-like Element Carrying the Metallo-Beta-Lactamase Gene BlaIMP ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39(7): 1612-15. doi:10.1128/AAC.39.7.1612.

Arshad, Noayna, Wael Azzam, Marya D. Zilberberg, et Andrew F. Shorr. 2025. « Acinetobacter Baumannii Complex Infections: New Treatment Options in the Antibiotic Pipeline ». *Microorganisms* 13(2): 356. doi:10.3390/microorganisms13020356.

Attili, Anna-Rita, Francesca Paola Nocera, Martina Sisto, Martina Linardi, Francesca Gigli, Victor Ngu Ngwa, Filomena Fiorito, et al. 2024. « Evidence and antibiotic resistance profiles of clinical *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* (ACB) and non-ACB complex members in companion animals: A 2020–2022 retrospective study ». *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 109: 102185. doi:10.1016/j.cimid.2024.102185.

Ayoub Moubareck, Carole, et Dalal Hammoudi Halat. 2020. « Insights into Acinetobacter Baumannii: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen ». *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9(3): 119. doi:10.3390/antibiotics9030119.

Baharoglu, Zeynep, David Bikard, et Didier Mazel. 2010. « Conjugative DNA Transfer Induces the Bacterial SOS Response and Promotes Antibiotic Resistance Development through Integron Activation ». *PLOS Genetics* 6(10): e1001165. doi:10.1371/journal.pgen.1001165.

Baharoglu, Zeynep, Evelyne Krin, et Didier Mazel. 2012. « Connecting Environment and Genome Plasticity in the Characterization of Transformation-Induced SOS Regulation and Carbon Catabolite Control of the Vibrio cholerae Integron Integrase ». *Journal of Bacteriology* 194(7): 1659-67. doi:10.1128/jb.05982-11.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Bailey, Jannine K., Jeremy L. Pinyon, Sashindran Anantham, et Ruth M. Hall. 2010. « Commensal Escherichia Coli of Healthy Humans: A Reservoir for Antibiotic-Resistance Determinants ». *Journal of Medical Microbiology* 59(Pt 11): 1331-39. doi:10.1099/jmm.0.022475-0.

Barkovskii, Andrei L., Christen Green, et Dorset Hurley. 2010. « The Occurrence, Spatial and Temporal Distribution, and Environmental Routes of Tetracycline Resistance and Integrase Genes in Crassostrea Virginica Beds ». *Marine Pollution Bulletin* 60(12): 2215-24. doi:10.1016/j.marpolbul.2010.08.016.

Barlow, Robert S., et Kari S. Gobius. 2006. « Diverse class 2 integrons in bacteria from beef cattle sources ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58(6): 1133-38. doi:10.1093/jac/dkl423.

Barraud, Olivier, M Baclet, François Denis, et Marie-Cecile Ploy. 2010. « Quantitative multiplex real-time PCR for detecting class 1, 2 and 3 integrons ». *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 65: 1642-45. doi:10.1093/jac/dkq167.

Barraud, Olivier, Bruno François, Delphine Chainier, Julie Vignaud, et Marie-Cécile Ploy. 2014. « Value of integron detection for predicting antibiotic resistance in patients with Gram-negative septicaemia ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 44(4): 351-53. doi:10.1016/j.ijantimicag.2014.06.008.

Barraud, Olivier, et Marie-Cécile Ploy. 2015. « Diversity of Class 1 Integron Gene Cassette Rearrangements Selected under Antibiotic Pressure ». *Journal of Bacteriology* 197(13): 2171-78. doi:10.1128/JB.02455-14.

Bartual, Sergio G., Harald Seifert, Corinna Hippler, M. Angeles Domínguez Luzon, Hilmar Wisplinghoff, et Francisco Rodríguez-Valera. 2005. « Development of a Multilocus Sequence Typing Scheme for Characterization of Clinical Isolates of Acinetobacter Baumannii ». *Journal of Clinical Microbiology* 43(9): 4382-90. doi:10.1128/JCM.43.9.4382-4390.2005.

Baumann, P. 1968. « Isolation of Acinetobacter from Soil and Water ». *Journal of Bacteriology* 96(1): 39-42. doi:10.1128/jb.96.1.39-42.1968.

Baumann, P., M. Doudoroff, et R. Y. Stanier. 1968. « A Study of the Moraxella Group II. Oxidative-negative Species (Genus Acinetobacter)1 ». *Journal of Bacteriology* 95(5): 1520-41.

Beaber, John W., Bianca Hochhut, et Matthew K. Waldor. 2004. « SOS Response Promotes Horizontal Dissemination of Antibiotic Resistance Genes ». *Nature* 427(6969): 72-74. doi:10.1038/nature02241.

Beijerinck, M.W. 1911. « Pigments as Products of Oxidation by Bacterial Action ».

Belmonte, O., H. Pailhoriès, M. Kempf, M. P. Gaultier, C. Lemarié, C. Ramont, M. L. Joly-Guillou, et M. Eveillard. 2014. « High Prevalence of Closely-Related Acinetobacter

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Baumannii in Pets According to a Multicentre Study in Veterinary Clinics, Reunion Island ». *Veterinary Microbiology* 170(3-4): 446-50. doi:10.1016/j.vetmic.2014.01.042.

Benoit, Thomas, Dania Sajjad, Michel Cloutier, David R. Lapen, Emilia Craiovan, Ellen M. E. Sykes, Ayush Kumar, et Izhar U. H. Khan. 2024. « Acinetobacter Calcoaceticus-Baumannii Complex Prevalence, Spatial-Temporal Distribution, and Contamination Sources in Canadian Aquatic Environments ». *Microbiology Spectrum* 12(10): e0150924. doi:10.1128/spectrum.01509-24.

Bergogne-Bérézin, E, et K J Towner. 1996. « Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. » *Clinical Microbiology Reviews* 9(2): 148-65.

Bissonnette, L, et P H Roy. 1992. « Characterization of In0 of Pseudomonas aeruginosa plasmid pVS1, an ancestor of integrons of multiresistance plasmids and transposons of gram-negative bacteria ». *Journal of Bacteriology* 174(4): 1248-57. doi:10.1128/jb.174.4.1248-1257.1992.

Blackwell, Grace A., Kathryn E. Holt, Stephen D. Bentley, Li Yang Hsu, et Ruth M. Hall. 2017. « Variants of AbGRI3 Carrying the ArmA Gene in Extensively Antibiotic-Resistant Acinetobacter Baumannii from Singapore ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 72(4): 1031-39. doi:10.1093/jac/dkw542.

Blackwell, Grace A., Steven J. Nigro, et Ruth M. Hall. 2016. « Evolution of AbGRI2-0, the Progenitor of the AbGRI2 Resistance Island in Global Clone 2 of Acinetobacter baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60(3): 1421-29. doi:10.1128/AAC.02662-15.

Blehm, Cláudia Justin, Marina Silveira Gregis Monteiro, Marjo Cadó Bessa, Mariana Leyser, Amanda Simão Dias, Juliana Sumienski, Stephanie Wagner Gallo, et al. 2022. « Copper-Coated Hospital Surfaces: Reduction of Total Bacterial Loads and Resistant Acinetobacter Spp. » *AMB Express* 12(1): 146. doi:10.1186/s13568-022-01491-x.

Bonnin, R. A., L. Poirel, T. Naas, M. Pirs, K. Seme, J. Schrenzel, et P. Nordmann. 2012. « Dissemination of New Delhi Metallo-β-Lactamase-1-Producing Acinetobacter Baumannii in Europe ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 18(9): E362-365. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03928.x.

Bouvet, Philippe J. M., et Patrick A. D. Grimont. 1986. « 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 lwoffii ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 36(2): 228-40. doi:10.1099/00207713-36-2-228.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Bouvier, Marie, Gaëlle Demarre, et Didier Mazel. 2005. « Integron Cassette Insertion: A Recombination Process Involving a Folded Single Strand Substrate ». *The EMBO journal* 24(24): 4356-67. doi:10.1038/sj.emboj.7600898.

Brisou, J. 1957. « [Contribution to the study of Pseudomonadaceae; taxonomic details on the genus Acinetobacter] ». *Annales De l'Institut Pasteur* 92(1): 134-37.

Brisou, J., et A. R. Prevot. 1954. « [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under Acromobacter group] ». *Annales De l'Institut Pasteur* 86(6): 722-28.

Buelow, Elena, Marie-Cecile Ploy, et Christophe Dagot. 2021. « Role of pollution on the selection of antibiotic resistance and bacterial pathogens in the environment ». *Current Opinion in Microbiology* 64: 117-24. doi:10.1016/j.mib.2021.10.005.

Buelow, Elena, Andreu Rico, Margaux Gaschet, José Lourenço, Sean P. Kennedy, Laure Wiest, Marie-Cecile Ploy, et Christophe Dagot. 2020. « Hospital discharges in urban sanitation systems: Long-term monitoring of wastewater resistome and microbiota in relationship to their eco-exposome ». *Water Research X* 7: 100045. doi:10.1016/j.wroa.2020.100045.

Burr, T., J. Mitchell, A. Kolb, S. Minchin, et S. Busby. 2000. « DNA Sequence Elements Located Immediately Upstream of the -10 Hexamer in Escherichia Coli Promoters: A Systematic Study ». *Nucleic Acids Research* 28(9): 1864-70. doi:10.1093/nar/28.9.1864.

Bzdil, J., O. Holy, et J. Toporcak. 2018. « Gram-Negative Aerobic and Microaerophilic Microorganisms Isolated from Pathological Processes and Lesions of Horses ». *Veterinární medicína* 63(2): 55-62. doi:10.17221/117/2017-VETMED.

Cabezón, Elena, Jorge Ripoll-Rozada, Alejandro Peña, Fernando de la Cruz, et Ignacio Arechaga. 2015. « Towards an integrated model of bacterial conjugation ». *FEMS Microbiology Reviews* 39(1): 81-95. doi:10.1111/1574-6976.12085.

Candra, Belinda, Deborah Cook, et Janelle Hare. 2024. « Repression of Acinetobacter baumannii DNA damage response requires DdrR-assisted binding of UmuDAb dimers to atypical SOS box ». *Journal of Bacteriology* 206(6): e00432-23. doi:10.1128/jb.00432-23.

Carvalho, André, Alberto Hipólito, Filipa Trigo da Roza, Lucía García-Pastor, Ester Vergara, Aranzazu Buendía, Teresa García-Seco, et José Antonio Escudero. 2024. « The Expression of Integron Arrays Is Shaped by the Translation Rate of Cassettes ». *Nature Communications* 15(1): 9232. doi:10.1038/s41467-024-53525-6.

Castanheira, Mariana, Rodrigo E. Mendes, et Ana C. Gales. 2023. « Global Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Acinetobacter Baumannii-Calcoaceticus Complex ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 76(Suppl 2): S166-78. doi:10.1093/cid/ciad109.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Castillo-Ramírez, Santiago. 2022. « Zoonotic Acinetobacter baumannii: the need for genomic epidemiology in a One Health context ». *The Lancet. Microbe* 3(12): e895-96. doi:10.1016/S2666-5247(22)00255-5.

Castillo-Ramírez, Santiago. 2023. « The Importance of Acinetobacter Baumannii from Non-Human Sources ». *The Lancet Microbe* 4(10): e761-62. doi:10.1016/S2666-5247(23)00246-X.

Castillo-Ramírez, Santiago, Alejandro Aguilar-Vera, Ayush Kumar, et Benjamin Evans. 2025. « Acinetobacter baumannii: much more than a human pathogen ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 0(0): e00801-25. doi:10.1128/aac.00801-25.

Chan, Agnes P., Yongwook Choi, Thomas H. Clarke, Lauren M. Brinkac, Richard C. White, Michael R. Jacobs, Robert A. Bonomo, Mark D. Adams, et Derrick E. Fouts. 2020. « AbGRI4, a Novel Antibiotic Resistance Island in Multiply Antibiotic-Resistant Acinetobacter Baumannii Clinical Isolates ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 75(10): 2760-68. doi:10.1093/jac/dkaa266.

Charpentier, Xavier, Elisabeth Kay, Dominique Schneider, et Howard A. Shuman. 2011. « Antibiotics and UV Radiation Induce Competence for Natural Transformation in Legionella pneumophila ». *Journal of Bacteriology* 193(5): 1114-21. doi:10.1128/JB.01146-10.

Chen, Qiang, Wensi Zhou, Yuening Cheng, Guisheng Wang, Zhihao San, Li Guo, Liming Liu, Cuiqing Zhao, et Na Sun. 2024. « Four novel Acinetobacter lwoffii strains isolated from the milk of cows in China with subclinical mastitis ». *BMC Veterinary Research* 20: 274. doi:10.1186/s12917-024-04119-3.

Chiu, Chun-Hsiang, Yi-Tzu Lee, Yung-Chih Wang, Ti Yin, Shu-Chen Kuo, Ya-Sung Yang, Te-Li Chen, et al. 2015. « A Retrospective Study of the Incidence, Clinical Characteristics, Identification, and Antimicrobial Susceptibility of Bacteremic Isolates of Acinetobacter Ursingii ». *BMC infectious diseases* 15: 400. doi:10.1186/s12879-015-1145-z.

Chopra, Teena, Dror Marchaim, Reda A. Awali, Amar Krishna, Paul Johnson, Ryan Tansek, Khawar Chaudary, et al. 2013. « Epidemiology of Bloodstream Infections Caused by Acinetobacter Baumannii and Impact of Drug Resistance to Both Carbapenems and Ampicillin-Sulbactam on Clinical Outcomes ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57(12): 6270-75. doi:10.1128/AAC.01520-13.

Chung, Doo Ryeon, Jae-Hoon Song, So Hyun Kim, Visanu Thamlikitkul, Shao-Guang Huang, Hui Wang, Thomas Man-Kit So, et al. 2011. « High Prevalence of Multidrug-Resistant Nonfermenters in Hospital-Acquired Pneumonia in Asia ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 184(12): 1409-17. doi:10.1164/rccm.201102-0349OC.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Chusri, Sarunyou, Virasakdi Chongsuvivatwong, Jesabel I. Rivera, Kachornsakdi Silpapojakul, Kamonnut Singkhamanan, Edward McNeil, et Yohei Doi. 2014. « Clinical Outcomes of Hospital-Acquired Infection with Acinetobacter Nosocomialis and Acinetobacter Pittii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58(7): 4172-79. doi:10.1128/AAC.02992-14.

Clark, Nina M., George G. Zhanel, et Joseph P. Lynch. 2016. « Emergence of Antimicrobial Resistance among Acinetobacter Species: A Global Threat ». *Current Opinion in Critical Care* 22(5): 491-99. doi:10.1097/MCC.0000000000000337.

Claverys, Jean-Pierre, Bernard Martin, et Patrice Polard. 2009. « The genetic transformation machinery: composition, localization, and mechanism ». *FEMS Microbiology Reviews* 33(3): 643-56. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00164.x.

Cocchi, Stefano, Elena Grasselli, Michaela Gutacker, Cinzia Benagli, Maruska Convert, et Jean-Claude Piffaretti. 2007. « Distribution and Characterization of Integrons in Escherichia Coli Strains of Animal and Human Origin ». *FEMS immunology and medical microbiology* 50(1): 126-32. doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00242.x.

Collis, C. M., G. Grammaticopoulos, J. Briton, H. W. Stokes, et R. M. Hall. 1993. « Site-Specific Insertion of Gene Cassettes into Integrons ». *Molecular Microbiology* 9(1): 41-52. doi:10.1111/j.1365-2958.1993.tb01667.x.

Collis, C. M., et R. M. Hall. 1992. « Gene Cassettes from the Insert Region of Integrons Are Excised as Covalently Closed Circles ». *Molecular Microbiology* 6(19): 2875-85. doi:10.1111/j.1365-2958.1992.tb01467.x.

Collis, C M, et R M Hall. 1995. « Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39(1): 155-62. doi:10.1128/aac.39.1.155.

Collis, Christina M., et Ruth M. Hall. 2004. « Comparison of the structure–activity relationships of the integron-associated recombination sites attI3 and attI1 reveals common features ». *Microbiology* 150(5): 1591-1601. doi:10.1099/mic.0.26596-0.

Collis, Christina M., Mi-Jurng Kim, Sally R. Partridge, H. W. Stokes, et Ruth M. Hall. 2002. « Characterization of the Class 3 Integron and the Site-Specific Recombination System It Determines ». *Journal of Bacteriology* 184(11): 3017-26. doi:10.1128/jb.184.11.3017-3026.2002.

Collis, Christina M., Mi-Jurng Kim, H. W. Stokes, et Ruth M. Hall. 2002. « Integron-Encoded IntI Integrases Preferentially Recognize the Adjacent Cognate AttI Site in Recombination with a 59-Be Site ». *Molecular Microbiology* 46(5): 1415-27. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.03260.x.

Cooper, Robert M., Lev Tsimring, et Jeff Hasty. 2017. « Inter-Species Population Dynamics Enhance Microbial Horizontal Gene Transfer and Spread of Antibiotic Resistance ». *eLife* 6: e25950. doi:10.7554/eLife.25950.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Correia, Mário, Filipa Boavida, Filipa Grosso, M. J. Salgado, L. M. Lito, J. Melo Cristino, Sónia Mendo, et Aida Duarte. 2003. « Molecular Characterization of a New Class 3 Integron in Klebsiella pneumoniae ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47(9): 2838-43. doi:10.1128/aac.47.9.2838-2843.2003.

Cosgaya, Clara, Marta Marí-Almirall, Ado Van Assche, Dietmar Fernández-Orth, Noraida Mosqueda, Murat Telli, Geert Huys, et al. 2016. « Acinetobacter dijkshoorniae sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex mainly recovered from clinical samples in different countries ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66(10): 4105-11. doi:10.1099/ijsem.0.001318.

Costa de Oliveira, R., J. Laval, et S. Boiteux. 1987. « Induction of SOS and adaptive responses by alkylating agents in *Escherichia coli* mutants deficient in 3-methyladenine-DNA glycosylase activities ». *Mutation Research/DNA Repair Reports* 183(1): 11-20. doi:10.1016/0167-8817(87)90040-X.

Courcelle, Justin, Arkady Khodursky, Brian Peter, Patrick O Brown, et Philip C Hanawalt. 2001. « Comparative Gene Expression Profiles Following UV Exposure in Wild-Type and SOS-Deficient Escherichia coli ». *Genetics* 158(1): 41-64. doi:10.1093/genetics/158.1.41.

Couve-Deacon, Elodie. 2017. « Epidémiologie et régulation des intégrons de classe 1 chez Acinetobacter Baumannii ».

Couvé-Deacon, Elodie, Thomas Jové, Pamela Afouda, Olivier Barraud, Valentin Tilloy, Erwan Scaon, Bastien Hervé, et al. 2019. « Class 1 Integrons in Acinetobacter Baumannii: A Weak Expression of Gene Cassettes to Counterbalance the Lack of LexA-Driven Integrase Repression ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 53(4): 491-99. doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.11.012.

Crowley, David J., et Justin Courcelle. 2002. « Answering the Call: Coping with DNA Damage at the Most Inopportune Time ». *BioMed Research International* 2(2): 914746. doi:10.1155/S1110724302202016.

Custovic, Amer, Jasmina Smajlovic, Nijaz Tihic, Sadeta Hadzic, Sead Ahmetagic, et Haris Hadzagic. 2014. « Epidemiological Monitoring of Nosocomial Infections Caused by Acinetobacter Baumannii ». *Medical Archives* 68(6): 402-6. doi:10.5455/medarh.2014.68.402-406.

Da Re, Sandra, Fabien Garnier, Emilie Guérin, Susana Campoy, François Denis, et Marie-Cécile Ploy. 2009. « The SOS response promotes qnrB quinolone-resistance determinant expression ». *EMBO reports* 10(8): 929-33. doi:10.1038/embor.2009.99.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Da Silva, Gabriela Jorge, et Sara Domingues. 2016. « Insights on the Horizontal Gene Transfer of Carbapenemase Determinants in the Opportunistic Pathogen Acinetobacter Baumannii ». *Microorganisms* 4(3): 29. doi:10.3390/microorganisms4030029.

Daniel, Arsanios Martin, Diana Garzón, Andrés Vivas, Tíjaro Merchán Viviana, Diego Alejandro Cubides-Diaz, et Yesid Mantilla Fabian. 2021. « Catheter-Related Bloodstream Infection Due to Acinetobacter Ursingii in a Hemodialysis Patient: Case Report and Literature Review ». *The Pan African Medical Journal* 39: 208. doi:10.11604/pamj.2021.39.208.30565.

Darby, Elizabeth M., Eleftheria Trampari, Pauline Siasat, Maria Solsona Gaya, Ilyas Alav, Mark A. Webber, et Jessica M. A. Blair. 2023. « Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance Revisited ». *Nature Reviews Microbiology* 21(5): 280-95. doi:10.1038/s41579-022-00820-y.

Deatherage, Brooke L., et Brad T. Cookson. 2012. « Membrane Vesicle Release in Bacteria, Eukaryotes, and Archaea: a Conserved yet Underappreciated Aspect of Microbial Life ». *Infection and Immunity* 80(6): 1948-57. doi:10.1128/iai.06014-11.

Deng, Yang, Xuerui Bao, Lili Ji, Lei Chen, Junyan Liu, Jian Miao, Dingqiang Chen, et al. 2015. « Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons ». *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 14: 45. doi:10.1186/s12941-015-0100-6.

van Dessel, Helke, Lenie Dijkshoorn, Tanny van der Reijden, Nancy Bakker, Armand Paauw, Peterhans van den Broek, Jan Verhoef, et Sylvain Brisse. 2004. « Identification of a New Geographically Widespread Multiresistant Acinetobacter Baumannii Clone from European Hospitals ». *Research in Microbiology* 155(2): 105-12. doi:10.1016/j.resmic.2003.10.003.

Diancourt, Laure, Virginie Passet, Alexandr Nemec, Lenie Dijkshoorn, et Sylvain Brisse. 2010. « The Population Structure of Acinetobacter Baumannii: Expanding Multiresistant Clones from an Ancestral Susceptible Genetic Pool ». *PloS One* 5(4): e10034. doi:10.1371/journal.pone.0010034.

Dijkshoorn, L, H Aucken, P Gerner-Smidt, P Janssen, M E Kaufmann, J Garaizar, J Ursing, et T L Pitt. 1996. « Comparison of outbreak and nonoutbreak Acinetobacter baumannii strains by genotypic and phenotypic methods. » *Journal of Clinical Microbiology* 34(6): 1519-25. doi:10.1128/jcm.34.6.1519-1525.1996.

Dolejska, M., A. Cizek, et I. Literak. 2007. « High Prevalence of Antimicrobial-Resistant Genes and Integrons in Escherichia Coli Isolates from Black-Headed Gulls in the Czech Republic ». *Journal of Applied Microbiology* 103(1): 11-19. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.03241.x.

Domingues, Sara, Klaus Harms, W. Florian Fricke, Pål J. Johnsen, Gabriela J. da Silva, et Kaare Magne Nielsen. 2012. « Natural Transformation Facilitates Transfer of

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Transposons, Integrons and Gene Cassettes between Bacterial Species ». *PLOS Pathogens* 8(8): e1002837. doi:10.1371/journal.ppat.1002837.

Domingues, Sara, Natasha Rosário, Ângela Cândido, Daniela Neto, Kaare M. Nielsen, et Gabriela J. Da Silva. 2019. « Competence for Natural Transformation Is Common among Clinical Strains of Resistant Acinetobacter Spp ». *Microorganisms* 7(2): 30. doi:10.3390/microorganisms7020030.

Dortet, Laurent, Patrick Legrand, Claude-James Soussy, et Vincent Cattoir. 2006. « Bacterial Identification, Clinical Significance, and Antimicrobial Susceptibilities of Acinetobacter ursingii and Acinetobacter schindleri, Two Frequently Misidentified Opportunistic Pathogens ». *Journal of Clinical Microbiology* 44(12): 4471-78. doi:10.1128/JCM.01535-06.

Duijkeren, Engeline Van, Adrienne T. A. Box, Pepijn Schellen, Dirk J. Houwers, et Ad C. Fluit. 2005. « Class 1 Integrons in Enterobacteriaceae Isolated from Clinical Infections of Horses and Dogs in the Netherlands ». *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 11(4): 383-86. doi:10.1089/mdr.2005.11.383.

Dunlap, Christopher A., et Alejandro P. Rooney. 2018. « Acinetobacter Dijkshoorniae Is a Later Heterotypic Synonym of Acinetobacter Lactucae ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68(1): 131-32. doi:10.1099/ijsem.0.002470.

Eijkelkamp, Bart A, Uwe H Stroeher, Karl A Hassan, Ian T Paulsen, et Melissa H Brown. 2014. « Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of Acinetobacter baumannii ». *BMC Genomics* 15(1): 1020. doi:10.1186/1471-2164-15-1020.

Erdmann, Susanne, Bernhard Tschitschko, Ling Zhong, Mark J. Raftery, et Ricardo Cavicchioli. 2017. « A Plasmid from an Antarctic Haloarchaeon Uses Specialized Membrane Vesicles to Disseminate and Infect Plasmid-Free Cells ». *Nature Microbiology* 2(10): 1446-55. doi:10.1038/s41564-017-0009-2.

Escudero, José Antonio, Céline Loot, et Didier Mazel. 2018. « Integrons as Adaptive Devices ». In *Molecular Mechanisms of Microbial Evolution*, éd. Pabulo H. Rampelotto. Cham: Springer International Publishing, 199-239. doi:10.1007/978-3-319-69078-0_9.

European Centre for Disease Prevention and Control. 2024. *Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use in European Acute Care Hospitals, 2022-2023.* LU: Publications Office. https://data.europa.eu/doi/10.2900/88011 (10 septembre 2025).

European Centre for Disease Prevention and Control. et World Health Organization. 2023. *Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2023: 2021 Data.* LU: Publications Office. https://data.europa.eu/doi/10.2900/63495 (6 juillet 2023).

Eveillard, Matthieu, Marie Kempf, Olivier Belmonte, Hélène Pailhoriès, et Marie-Laure Joly-Guillou. 2013. « Reservoirs of Acinetobacter Baumannii Outside the Hospital and

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Potential Involvement in Emerging Human Community-Acquired Infections ». *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases* 17(10): e802-805. doi:10.1016/j.ijid.2013.03.021.

Falagas, M. E., E. A. Karveli, I. Kelesidis, et T. Kelesidis. 2007. « Community-Acquired Acinetobacter Infections ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 26(12): 857-68. doi:10.1007/s10096-007-0365-6.

Firoozeh, Farzaneh, Mohammad Ghorbani, Mohammad Zibaei, Farzad Badmasti, Malihe Farid, Narges Omidinia, et Fatemeh Bakhshi. 2023. « Characterization of Class 1 Integrons in Metallo-β-Lactamase-Producing Acinetobacter Baumannii Isolates from Hospital Environment ». *BMC research notes* 16(1): 365. doi:10.1186/s13104-023-06646-y.

Flores, Carlos, M.Ishtiaq Qadri, et Conrad Lichtenstein. 1990. « DNA Sequence Analysis of Five Genes; *TnsA, B, C, D* and *E* , Required for Tn7 Transposition ». *Nucleic Acids Research* 18(4): 901-11. doi:10.1093/nar/18.4.901.

Foglia, Francesco, Annalisa Ambrosino, Shahab Bashir, Emiliana Finamore, Carla Zannella, Giovanna Donnarumma, Anna De Filippis, et Massimiliano Galdiero. 2025. « Prevalence of Acinetobacter Baumannii Multidrug Resistance in University Hospital Environment ». *Antibiotics* 14(5): 490. doi:10.3390/antibiotics14050490.

Fonseca, Érica Lourenço da, Sérgio Mascarenhas Morgado, Fernanda dos Santos Freitas, Priscila P. C. Oliveira, Priscilla M. Monteiro, Lorena S. Lima, Bianca P. Santos, et al. 2023. « Outbreak of a Carbapenem-Resistant XDR Acinetobacter Baumannii Belonging to the International Clone II (IC2) in a Clinical Setting in Brazil, 2022 ». : 2023.05.12.23289862. doi:10.1101/2023.05.12.23289862.

Fonseca, Érica Lourenço, Fernanda dos Santos Freitas, Érica Miranda D. Scheidegger, Tânia Jacinto, et Ana Carolina Paulo Vicente. 2011. « Class 2 Integrons in Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii Circulating in Different Brazilian Geographic Regions ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 38(1): 95-96. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.03.013.

Fournier, Pierre Edouard, Hervé Richet, et Robert A. Weinstein. 2006. « The Epidemiology and Control of Acinetobacter baumannii in Health Care Facilities ». *Clinical Infectious Diseases* 42(5): 692-99. doi:10.1086/500202.

Francey, T., F. Gaschen, J. Nicolet, et A. P. Burnens. 2000. « The Role of Acinetobacter Baumannii as a Nosocomial Pathogen for Dogs and Cats in an Intensive Care Unit ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14(2): 177-83. doi:10.1892/0891-6640(2000)014<0177:trobaa>2.3.co;2.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Fry, Kara L., Vanessa J. McPherson, Michael R. Gillings, et Mark Patrick Taylor. 2023. « Tracing the Sources and Prevalence of Class 1 Integrons, Antimicrobial Resistance, and Trace Elements Using European Honey Bees ». *Environmental Science & Technology* 57(29): 10582-90. doi:10.1021/acs.est.3c03775.

Gaiarsa, Stefano, Gherard Batisti Biffignandi, Eliana Pia Esposito, Michele Castelli, Keith A. Jolley, Sylvain Brisse, Davide Sassera, et Raffaele Zarrilli. 2019. « Comparative Analysis of the Two Acinetobacter baumannii Multilocus Sequence Typing (MLST) Schemes ». *Frontiers in Microbiology* 10: 930. doi:10.3389/fmicb.2019.00930.

Garnacho-Montero, José, et Rosario Amaya-Villar. 2010. « Multiresistant Acinetobacter Baumannii Infections: Epidemiology and Management ». *Current Opinion in Infectious Diseases* 23(4): 332-39. doi:10.1097/QCO.0b013e32833ae38b.

Gashgarey, Deema, Raghad Alhuthil, Mohammed Alsuhaibani, Salem Alghamdi, Suliman Al Jumaah, Ohoud Al Yabes, Esam A. Albanyan, et Sami Al-Hajjar. 2025. « Epidemiology of pediatric Acinetobacter spp bacteremia at a tertiary care center in Riyadh, Saudi Arabia ». *Annals of Saudi Medicine* 45(5): 326-35. doi:10.5144/0256-4947.2025.326.

Gatica, Joao, Vijay Tripathi, Stefan Green, Celia M. Manaia, Thomas Berendonk, Damiano Cacace, Christophe Merlin, et al. 2016. « High Throughput Analysis of Integron Gene Cassettes in Wastewater Environments ». *Environmental Science & Technology* 50(21): 11825-36. doi:10.1021/acs.est.6b03188.

Gaudin, Marie, Emilie Gauliard, Stefan Schouten, Ludivine Houel-Renault, Pascal Lenormand, Evelyne Marguet, et Patrick Forterre. 2013. « Hyperthermophilic Archaea Produce Membrane Vesicles That Can Transfer DNA ». *Environmental Microbiology Reports* 5(1): 109-16. doi:10.1111/j.1758-2229.2012.00348.x.

Gaze, W. H., N. Abdouslam, P. M. Hawkey, et E. M. H. Wellington. 2005. « Incidence of Class 1 Integrons in a Quaternary Ammonium Compound-Polluted Environment ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(5): 1802-7. doi:10.1128/aac.49.5.1802-1807.2005.

Geisinger, Edward, et Ralph R. Isberg. 2015. « Antibiotic Modulation of Capsular Exopolysaccharide and Virulence in Acinetobacter Baumannii ». *PLOS Pathogens* 11(2): e1004691. doi:10.1371/journal.ppat.1004691.

Gerner-Smidt, P, I Tjernberg, et J Ursing. 1991. « Reliability of phenotypic tests for identification of Acinetobacter species. » *Journal of Clinical Microbiology* 29(2): 277-82.

Gillings, Michael, Yan Boucher, Maurizio Labbate, Andrew Holmes, Samyuktha Krishnan, Marita Holley, et H. W. Stokes. 2008. « The Evolution of Class 1 Integrons and the Rise of Antibiotic Resistance ». *Journal of Bacteriology* 190(14): 5095-5100. doi:10.1128/JB.00152-08.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Gillings, Michael R. 2014. « Integrons: Past, Present, and Future ». *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* 78(2): 257-77. doi:10.1128/MMBR.00056-13.

Gillings, Michael R, William H Gaze, Amy Pruden, Kornelia Smalla, James M Tiedje, et Yong-Guan Zhu. 2015. « Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution ». *The ISME Journal* 9(6): 1269-79. doi:10.1038/ismej.2014.226.

Godeux, Anne-Sophie, Agnese Lupo, Marisa Haenni, Simon Guette-Marquet, Gottfried Wilharm, Maria-Halima Laaberki, et Xavier Charpentier. 2018. « Fluorescence-Based Detection of Natural Transformation in Drug-Resistant Acinetobacter Baumannii » éd. Victor J. DiRita. *Journal of Bacteriology* 200(19). doi:10.1128/JB.00181-18.

Godeux, Anne-Sophie, Elin Svedholm, Agnese Lupo, Marisa Haenni, Samuel Venner, Maria-Halima Laaberki, et Xavier Charpentier. 2020. « Scarless Removal of Large Resistance Island AbaR Results in Antibiotic Susceptibility and Increased Natural Transformability in Acinetobacter Baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 64(10): e00951-20. doi:10.1128/AAC.00951-20.

Goic-Barisic, Ivana, Martina Seruga Music, Ana Kovacic, Marija Tonkic, et Jasna Hrenovic. 2017. « Pan Drug-Resistant Environmental Isolate of Acinetobacter Baumannii from Croatia ». *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 23(4): 494-96. doi:10.1089/mdr.2016.0229.

Goldstein, Cathy, Margie D. Lee, Susan Sanchez, Charlene Hudson, Brad Phillips, Brad Register, Michael Grady, et al. 2001. « Incidence of Class 1 and 2 Integrases in Clinical and Commensal Bacteria from Livestock, Companion Animals, and Exotics ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(3): 723-26. doi:10.1128/AAC.45.3.723-726.2001.

Gonzalez, Gerardo, Katherine Sossa, Helia Bello, Mariana Dominguez, Sergio Mella, et Raul Zemelman. 1998. « Presence of integrons in isolates of different biotypes of *Acinetobacter baumannii* from Chilean hospitals ». *FEMS Microbiology Letters* 161(1): 125-28. doi:10.1016/S0378-1097(98)00060-3.

Gonzalez-Villoria, Ana Maria, et Veronica Valverde-Garduno. 2016. « Antibiotic-Resistant Acinetobacter baumannii Increasing Success Remains a Challenge as a Nosocomial Pathogen ». *Journal of Pathogens* 2016: 7318075. doi:10.1155/2016/7318075.

Guerin, Émilie, Guillaume Cambray, Neus Sanchez-Alberola, Susana Campoy, Ivan Erill, Sandra Da Re, Bruno Gonzalez-Zorn, et al. 2009. « The SOS Response Controls Integron Recombination ». *Science* 324(5930): 1034-1034. doi:10.1126/science.1172914.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Guérin, Emilie, Thomas Jové, Aurore Tabesse, Didier Mazel, et Marie-Cécile Ploy. 2011. « High-Level Gene Cassette Transcription Prevents Integrase Expression in Class 1 Integrons ». *Journal of Bacteriology* 193(20): 5675-82. doi:10.1128/jb.05246-11.

Hall, R. M., D. E. Brookes, et H. W. Stokes. 1991. « Site-Specific Insertion of Genes into Integrons: Role of the 59-Base Element and Determination of the Recombination Cross-over Point ». *Molecular Microbiology* 5(8): 1941-59. doi:10.1111/j.1365-2958.1991.tb00817.x.

Hall, Ruth M. 2012. « Integrons and Gene Cassettes: Hotspots of Diversity in Bacterial Genomes ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1267: 71-78. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06588.x.

Hall, Ruth M., et Christina M. Collis. 1998. « Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons ». *Drug Resistance Updates* 1(2): 109-19. doi:10.1016/S1368-7646(98)80026-5.

Hall, Ruth M., Christina M. Collis, Mi-Jurng Kim, Sally R. Partridge, Gavin D. Recchia, et H. W. Stokes. 1999. « Mobile Gene Cassettes and Integrons in Evolution ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 870(1): 68-80. doi:10.1111/j.1749-6632.1999.tb08866.x.

Hamed, Samira M., Amira F. A. Hussein, Mohamed H. Al-Agamy, Hesham H. Radwan, et Mai M. Zafer. 2022. « Genetic Configuration of Genomic Resistance Islands in Acinetobacter Baumannii Clinical Isolates From Egypt ». *Frontiers in Microbiology* 13. doi:10.3389/fmicb.2022.878912.

Hamidian, Mohammad, et Ruth M. Hall. 2018. « The AbaR Antibiotic Resistance Islands Found in Acinetobacter Baumannii Global Clone 1 - Structure, Origin and Evolution ». *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy* 41: 26-39. doi:10.1016/j.drup.2018.10.003.

Hamidian, Mohammad, Kathryn E. Holt, et Ruth M. Hall. 2015. « Genomic Resistance Island AGI1 Carrying a Complex Class 1 Integron in a Multiply Antibiotic-Resistant ST25 Acinetobacter Baumannii Isolate ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70(9): 2519-23. doi:10.1093/jac/dkv137.

Hansson, Karin, Lars Sundström, Alex Pelletier, et Paul H. Roy. 2002. « IntI2 Integron Integrase in Tn7 ». *Journal of Bacteriology* 184(6): 1712-21. doi:10.1128/jb.184.6.1712-1721.2002.

Hardwick, Simon A., H. W. Stokes, Sophia Findlay, Mark Taylor, et Michael R. Gillings. 2008. « Quantification of class 1 integron abundance in natural environments using real-time quantitative PCR ». *FEMS Microbiology Letters* 278(2): 207-12. doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00992.x.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Hare, Janelle M., Sabal Adhikari, Kasandra V. Lambert, Alexander E. Hare, et Alison N. Grice. 2012. « The Acinetobacter Regulatory UmuDAb Protein Cleaves in Response to DNA Damage with Chimeric LexA/UmuD Characteristics ». *FEMS microbiology letters* 334(1): 57-65. doi:10.1111/j.1574-6968.2012.02618.x.

Hawkey, Jane, David B. Ascher, Louise M. Judd, Ryan R. Wick, Xenia Kostoulias, Heather Cleland, Denis W. Spelman, et al. 2018. « Evolution of Carbapenem Resistance in Acinetobacter Baumannii during a Prolonged Infection ». *Microbial Genomics* 4(3): e000165. doi:10.1099/mgen.0.000165.

Heir, Even, Bjørn-Arne Lindstedt, Truls M. Leegaard, Elisabet Gjernes, et Georg Kapperud. 2004. « Prevalence and Characterization of Integrons in Blood Culture Enterobacteriaceae and Gastrointestinal Escherichia Coli in Norway and Reporting of a Novel Class 1 Integron-Located Lincosamide Resistance Gene ». *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 3: 12. doi:10.1186/1476-0711-3-12.

Henrikus, Sarah S., Antoine M. van Oijen, et Andrew Robinson. 2018. « Specialised DNA Polymerases in Escherichia Coli: Roles within Multiple Pathways ». *Current Genetics* 64(6): 1189-96. doi:10.1007/s00294-018-0840-x.

Higgins, P. G., H. Wisplinghoff, O. Krut, et H. Seifert. 2007. « A PCR-Based Method to Differentiate between Acinetobacter Baumannii and Acinetobacter Genomic Species 13TU ». *Clinical Microbiology and Infection* 13(12): 1199-1201. doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01819.x.

Hochhut, B., Y. Lotfi, D. Mazel, S. M. Faruque, R. Woodgate, et M. K. Waldor. 2001. « Molecular Analysis of Antibiotic Resistance Gene Clusters in Vibrio Cholerae O139 and O1 SXT Constins ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(11): 2991-3000. doi:10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001.

Howard, Aoife, Michael O'Donoghue, Audrey Feeney, et Roy D. Sleator. 2012. « Acinetobacter baumannii ». *Virulence* 3(3): 243-50. doi:10.4161/viru.19700.

Hrenovic, Jasna, Goran Durn, Ivana Goic-Barisic, et Ana Kovacic. 2014. « Occurrence of an Environmental Acinetobacter baumannii Strain Similar to a Clinical Isolate in Paleosol from Croatia ». *Applied and Environmental Microbiology* 80(9): 2860-66. doi:10.1128/AEM.00312-14.

Hu, Yuan, Lihua He, Xiaoxia Tao, Fanliang Meng, et Jianzhong Zhang. 2019. « High DNA Uptake Capacity of International Clone II Acinetobacter Baumannii Detected by a Novel Planktonic Natural Transformation Assay ». *Frontiers in Microbiology* 10. doi:10.3389/fmicb.2019.02165.

Hu, Yuan, Junjie Zheng, et Jianzhong Zhang. 2022. « Natural Transformation in Acinetobacter baumannii W068: A Genetic Analysis Reveals the Involvements of the CRP, XcpV,

Licence CC BY-NC-ND 4.0

XcpW, TsaP, and TonB2 ». *Frontiers in Microbiology* 12: 738034. doi:10.3389/fmicb.2021.738034.

Hua, Xiaoting, Robert A Moran, Qingye Xu, Jintao He, Youhong Fang, Linghong Zhang, Willem van Schaik, et Yunsong Yu. 2021. « Acquisition of a genomic resistance island (AbGRI5) from global clone 2 through homologous recombination in a clinical Acinetobacter baumannii isolate ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 76(1): 65-69. doi:10.1093/jac/dkaa389.

Hua, Xiaoting, Linyue Zhang, Jintao He, Sebastian Leptihn, et Yunsong Yu. 2020. « Population Biology and Epidemiological Studies of Acinetobacter Baumannii in the Era of Whole Genome Sequencing: Is the Oxford Scheme Still Appropriate? » *Frontiers in Microbiology* 11. doi:10.3389/fmicb.2020.00775.

Huang, Xinlin, Nianzhi Ning, Deyu Li, Suming Chen, Liangyan Zhang, Huan Wang, Chunmei Bao, et al. 2024. « Molecular epidemiology of Acinetobacter baumannii during COVID-19 at a hospital in northern China ». *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 23: 63. doi:10.1186/s12941-024-00716-0.

Ibrahim, Susan, Nadal Al-Saryi, Israa M. S. Al-Kadmy, et Sarah Naji Aziz. 2021. « Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii as an Emerging Concern in Hospitals ». *Molecular Biology Reports* 48(10): 6987-98. doi:10.1007/s11033-021-06690-6.

Imlay, J A, et S Linn. 1987. « Mutagenesis and stress responses induced in Escherichia coli by hydrogen peroxide ». *Journal of Bacteriology* 169(7): 2967-76. doi:10.1128/jb.169.7.2967-2976.1987.

Jackson, Melissa N. W., Wenjing Wei, Norman S. Mang, Bonnie C. Prokesch, et Jessica K. Ortwine. 2024. « Combination Eravacycline Therapy for Ventilator-Associated Pneumonia Due to Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii in Patients with COVID-19: A Case Series ». *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 44(4): 301-7. doi:10.1002/phar.2908.

Jawad, A., H. Seifert, A. M. Snelling, J. Heritage, et P. M. Hawkey. 1998. « Survival of Acinetobacter Baumannii on Dry Surfaces: Comparison of Outbreak and Sporadic Isolates ». *Journal of Clinical Microbiology* 36(7): 1938-41. doi:10.1128/JCM.36.7.1938-1941.1998.

Jia, Jia, Mengyu Liu, Leilei Feng, et Zaizhao Wang. 2022. « Comparative Genomic Analysis Reveals the Evolution and Environmental Adaptation of Acinetobacter Johnsonii ». *Gene* 808: 145985. doi:10.1016/j.gene.2021.145985.

Jia, Jia, Xue Xue, Yongjing Guan, Xiaoteng Fan, et Zaizhao Wang. 2022. « Biofilm Characteristics and Transcriptomic Profiling of Acinetobacter Johnsonii Defines Signatures for Planktonic and Biofilm Cells ». *Environmental Research* 213: 113714. doi:10.1016/j.envres.2022.113714.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Jiang, Han, Meijuan Ran, Xinyuan Wang, Qi Chen, Jing Wang, Zhi Ruan, Jingwen Wang, Biao Tang, et Jiehong Fang. 2025. « Prevalence and characterization of class I integrons in multidrug-resistant Escherichia coli isolates from humans and food-producing animals in Zhejiang Province, China ». *BMC Microbiology* 25: 76. doi:10.1186/s12866-025-03794-y.

Johansson, Carolina, Masood Kamali-Moghaddam, et Lars Sundström. 2004. « Integron Integrase Binds to Bulged Hairpin DNA ». *Nucleic Acids Research* 32(13): 4033-43. doi:10.1093/nar/gkh730.

Joly-Guillou, M.-L. 2005. « Clinical Impact and Pathogenicity of Acinetobacter ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 11(11): 868-73. doi:10.1111/j.1469-0691.2005.01227.x.

Jové, Thomas, Sandra Da Re, François Denis, Didier Mazel, et Marie-Cécile Ploy. 2010. « Inverse Correlation between Promoter Strength and Excision Activity in Class 1 Integrons » éd. Josep Casadesús. *PLoS Genetics* 6(1): e1000793. doi:10.1371/journal.pgen.1000793.

Jové, Thomas, Sandra Da Re, Aurore Tabesse, Amy Gassama-Sow, et Marie-Cécile Ploy. 2017. « Gene Expression in Class 2 Integrons Is SOS-Independent and Involves Two Pc Promoters ». *Frontiers in Microbiology* 8. doi:10.3389/fmicb.2017.01499.

Karah, Nabil, Christian G. Giske, Arnfinn Sundsfjord, et Ørjan Samuelsen. 2011. « A Diversity of OXA-Carbapenemases and Class 1 Integrons among Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii Clinical Isolates from Sweden Belonging to Different International Clonal Lineages ». *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 17(4): 545-49. doi:10.1089/mdr.2011.0089.

Kaushik, Megha, Sanjay Kumar, Rajeev Kumar Kapoor, Jugsharan Singh Virdi, et Pooja Gulati. 2018. « Integrons in Enterobacteriaceae: Diversity, Distribution and Epidemiology ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 51(2): 167-76. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004.

Khil, Pavel P., et R. Daniel Camerini-Otero. 2002. « Over 1000 Genes Are Involved in the DNA Damage Response of Escherichia Coli ». *Molecular Microbiology* 44(1): 89-105. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.02878.x.

Kieffer, N., Hipólito, A., Ortiz-Miravalles, L., Blanco, P., Delobelle, T., Vizuete, P., Ojeda, F. M., Jové, T., Jurenas, D., García-Quintanilla, M., Carvalho, A., Domingo-Calap, P., & Escudero, J. A. (2025). Mobile integrons encode phage defense systems. *Science*, *388*(6747), eads0915. https://doi.org/10.1126/science.ads0915

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Kim, Dae Hun, Ji-Young Choi, Hae Won Kim, So Hyun Kim, Doo Ryeon Chung, Kyong Ran Peck, Visanu Thamlikitkul, et al. 2013. « Spread of Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii Global Clone 2 in Asia and AbaR-Type Resistance Islands ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57(11): 5239-46. doi:10.1128/AAC.00633-13.

Kim, Ji Hyun, Jaewook Lee, Jaesung Park, et Yong Song Gho. 2015. « Gram-negative and Gram-positive bacterial extracellular vesicles ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 40: 97-104. doi:10.1016/j.semcdb.2015.02.006.

Kimura, Yui, Tadashi Miyamoto, Kotaro Aoki, Yoshikazu Ishii, Kazuki Harada, Masahisa Watarai, et Shingo Hatoya. 2017. « Analysis of IMP-1 type metallo-β-lactamase-producing *Acinetobacter radioresistens* isolated from companion animals ». *Journal of Infection and Chemotherapy* 23(9): 655-57. doi:10.1016/j.jiac.2017.03.011.

Klotz, Peter, Paul G. Higgins, Andreas R. Schaubmar, Klaus Failing, Ursula Leidner, Harald Seifert, Sandra Scheufen, Torsten Semmler, et Christa Ewers. 2019. « Seasonal Occurrence and Carbapenem Susceptibility of Bovine Acinetobacter baumannii in Germany ». *Frontiers in Microbiology* 10: 272. doi:10.3389/fmicb.2019.00272.

Klotz, Peter, Lisa Jacobmeyer, Ursula Leidner, Ivonne Stamm, Torsten Semmler, et Christa Ewers. 2017. « Acinetobacter pittii from Companion Animals Coharboring blaOXA-58, the tet(39) Region, and Other Resistance Genes on a Single Plasmid ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(1): e01993-17. doi:10.1128/AAC.01993-17.

Koczura, Ryszard, Beata Przyszlakowska, Joanna Mokracka, et Adam Kaznowski. 2014. « Class 1 Integrons and Antibiotic Resistance of Clinical Acinetobacter Calcoaceticus-Baumannii Complex in Poznań, Poland ». *Current Microbiology* 69(3): 258-62. doi:10.1007/s00284-014-0581-0.

van der Kolk, J. H., A. Endimiani, C. Graubner, V. Gerber, et V. Perreten. 2019. « *Acinetobacter* in veterinary medicine, with an emphasis on *Acinetobacter baumannii* ». *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 16: 59-71. doi:10.1016/j.jgar.2018.08.011.

Kotay, Shireen M., Rodney M. Donlan, Christine Ganim, Katie Barry, Bryan E. Christensen, et Amy J. Mathers. 2019. « Droplet- Rather than Aerosol-Mediated Dispersion Is the Primary Mechanism of Bacterial Transmission from Contaminated Hand-Washing Sink Traps ». *Applied and Environmental Microbiology* 85(2): e01997-18. doi:10.1128/AEM.01997-18.

Krir, a., S. Dhraief, A.A. Messadi, et L. Thabet. 2019. « Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant sept ans ». *Annals of Burns and Fire Disasters* 32(3): 197-202.

Krizova, Lenka, Lenie Dijkshoorn, et Alexandr Nemec. 2011. « Diversity and Evolution of AbaR Genomic Resistance Islands in Acinetobacter baumannii Strains of European Clone

Licence CC BY-NC-ND 4.0

I ▿ ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55(7): 3201-6. doi:10.1128/AAC.00221-11.

Kuzminov, Andrei. 1999. « Recombinational Repair of DNA Damage inEscherichia coli and Bacteriophage λ ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(4): 751-813. doi:10.1128/mmbr.63.4.751-813.1999.

Kyriakidis, Ioannis, Eleni Vasileiou, Zoi Dorothea Pana, et Athanasios Tragiannidis. 2021. « Acinetobacter Baumannii Antibiotic Resistance Mechanisms ». *Pathogens* 10(3): 373. doi:10.3390/pathogens10030373.

Lacotte, Yohann, Marie-Cécile Ploy, et Sophie Raherison. 2017. « Class 1 Integrons Are Low-Cost Structures in Escherichia Coli ». *The ISME Journal* 11(7): 1535-44. doi:10.1038/ismej.2017.38.

Laroche, Emilie, Barbara Pawlak, Thierry Berthe, David Skurnik, et Fabienne Petit. 2009. « Occurrence of Antibiotic Resistance and Class 1, 2 and 3 Integrons in Escherichia Coli Isolated from a Densely Populated Estuary (Seine, France) ». *FEMS microbiology ecology* 68(1): 118-30. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00655.x.

Lasarte-Monterrubio, Cristina, Paula Guijarro-Sánchez, Isaac Alonso-Garcia, Michelle Outeda, Romina Maceiras, Lucia González-Pinto, Marta Martínez-Guitián, et al. 2024. « Epidemiology, resistance genomics and susceptibility of Acinetobacter species: results from the 2020 Spanish nationwide surveillance study ». *Eurosurveillance* 29(15): 2300352. doi:10.2807/1560-7917.ES.2024.29.15.2300352.

Ledesma, Martín M., Ailén M. Díaz, Claudia Barberis, Carlos Vay, Marcela A. Manghi, Juliana Leoni, Marisa S. Castro, et Alejandro Ferrari. 2017. « Identification of Lama Glama as Reservoirs for Acinetobacter Lwoffii ». *Frontiers in Microbiology* 8: 278. doi:10.3389/fmicb.2017.00278.

Lee, Chang-Ro, Jung Hun Lee, Moonhee Park, Kwang Seung Park, Il Kwon Bae, Young Bae Kim, Chang-Jun Cha, Byeong Chul Jeong, et Sang Hee Lee. 2017. « Biology of Acinetobacter baumannii: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00055 (5 juillet 2023).

Leverstein-van Hall, Maurine A., Hetty E. M Blok, A. Rogier T Donders, Armand Paauw, Ad C. Fluit, et Jan Verhoef. 2003. « Multidrug Resistance among Enterobacteriaceae Is Strongly Associated with the Presence of Integrons and Is Independent of Species or Isolate Origin ». *The Journal of Infectious Diseases* 187(2): 251-59. doi:10.1086/345880.

Li, Jia, Yang Li, Xiaoli Cao, Jie Zheng, Yan Zhang, Hui Xie, Chuchu Li, Chang Liu, et Han Shen. 2023. « Genome-Wide Identification and Oxacillinase OXA Distribution

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Characteristics of Acinetobacter Spp. Based on a Global Database ». *Frontiers in Microbiology* 14. doi:10.3389/fmicb.2023.1174200.

Lin, Ming-Feng, Ming-Li Liou, Chi-Chao Tu, Hui-Wen Yeh, et Chung-Yu Lan. 2013. « Molecular Epidemiology of Integron-Associated Antimicrobial Gene Cassettes in the Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii from Northern Taiwan ». *Annals of Laboratory Medicine* 33(4): 242-47. doi:10.3343/alm.2013.33.4.242.

Liu, Cunwei, Jia Liu, Qinghui Lu, Ping Wang, et Qinghua Zou. 2024. « The Mechanism of Tigecycline Resistance in Acinetobacter Baumannii under Sub-Minimal Inhibitory Concentrations of Tigecycline ». *International Journal of Molecular Sciences* 25(3): 1819. doi:10.3390/ijms25031819.

Liu, Yuag-Meng, Yi-Tzu Lee, Shu-Chen Kuo, Te-Li Chen, Chang-Pan Liu, et Chun-Eng Liu. 2017. « Comparison between Bacteremia Caused by Acinetobacter Pittii and Acinetobacter Nosocomialis ». *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi* 50(1): 62-67. doi:10.1016/j.jmii.2015.01.003.

Loot, Céline, Magaly Ducos-Galand, José Antonio Escudero, Marie Bouvier, et Didier Mazel. 2012. « Replicative Resolution of Integron Cassette Insertion ». *Nucleic Acids Research* 40(17): 8361-70. doi:10.1093/nar/gks620.

Loot, Céline, Gael A. Millot, Egill Richard, Eloi Littner, Claire Vit, Frédéric Lemoine, Bertrand Néron, et al. 2024. « Integron Cassettes Integrate into Bacterial Genomes via Widespread Non-Classical AttG Sites ». *Nature Microbiology* 9(1): 228-40. doi:10.1038/s41564-023-01548-y.

Loubinoux, Julien, Liliana Mihaila-Amrouche, Anne Le Fleche, Etienne Pigne, Gerard Huchon, Patrick A. D. Grimont, et Anne Bouvet. 2003. « Bacteremia Caused by Acinetobacter Ursingii ». *Journal of Clinical Microbiology* 41(3): 1337-38. doi:10.1128/JCM.41.3.1337-1338.2003.

Lupo, Agnese, Pierre Châtre, Cécile Ponsin, Estelle Saras, Henri-Jean Boulouis, Nicolas Keck, Marisa Haenni, et Jean-Yves Madec. 2017. « Clonal Spread of Acinetobacter Baumannii Sequence Type 25 Carrying *Bla*$_{\text{OXA-23}}$ in Companion Animals in France ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61(1): e01881-16. doi:10.1128/AAC.01881-16.

Lupo, Agnese, Marisa Haenni, et Jean-Yves Madec. 2018. « Antimicrobial Resistance in Acinetobacter spp. and Pseudomonas spp ». *Microbiology Spectrum* 6(3): 10.1128/microbiolspec.arba-0007-2017. doi:10.1128/microbiolspec.arba-0007-2017.

Lysitsas, Marios, Eleutherios Triantafillou, Irene Chatzipanagiotidou, Konstantina Antoniou, et George Valiakos. 2023. « Antimicrobial Susceptibility Profiles of Acinetobacter Baumannii Strains, Isolated from Clinical Cases of Companion Animals in Greece ». *Veterinary Sciences* 10(11): 635. doi:10.3390/vetsci10110635.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

M, Pagano, Martins Af, Machado Ab, Barin J, et Barth Al. 2013. « Carbapenem-Susceptible Acinetobacter Baumannii Carrying the ISAba1 Upstream BlaOXA-51-like Gene in Porto Alegre, Southern Brazil ». *Epidemiology and infection* 141(2). doi:10.1017/S095026881200074X.

Ma, Chaoying, et Siobhán Mcclean. 2021. « Mapping Global Prevalence of Acinetobacter baumannii and Recent Vaccine Development to Tackle It ». *Vaccines* 9: 570. doi:10.3390/vaccines9060570.

Magnet, Sophie, Patrice Courvalin, et Thierry Lambert. 2001. « Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pump Involved in Aminoglycoside Resistance in Acinetobacter baumannii Strain BM4454 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(12): 3375-80. doi:10.1128/aac.45.12.3375-3380.2001.

Maragakis, Lisa L., Margaret G. Tucker, Redonda G. Miller, Karen C. Carroll, et Trish M. Perl. 2008. « Incidence and Prevalence of Multidrug-Resistant Acinetobacter Using Targeted Active Surveillance Cultures ». *JAMA* 299(21): 2513-14. doi:10.1001/jama.299.21.2513.

Martinez-Freijo, P., A. C. Fluit, F. J. Schmitz, V. S. Grek, J. Verhoef, et M. E. Jones. 1998. « Class I Integrons in Gram-Negative Isolates from Different European Hospitals and Association with Decreased Susceptibility to Multiple Antibiotic Compounds ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 42(6): 689-96. doi:10.1093/jac/42.6.689.

Maslowska, Katarzyna H., Karolina Makiela-Dzbenska, et Iwona J. Fijalkowska. 2019. « The SOS System: A Complex and Tightly Regulated Response to DNA Damage ». *Environmental and Molecular Mutagenesis* 60(4): 368-84. doi:10.1002/em.22267.

Mazzamurro, F., Chirakadavil, J. B., Durieux, I., Poiré, L., Plantade, J., Ginevra, C., Jarraud, S., Wilharm, G., Charpentier, X., & Rocha, E. P. C. (2024). Intragenomic conflicts with plasmids and chromosomal mobile genetic elements drive the evolution of natural transformation within species. *PLOS Biology*, *22*(10), e3002814. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002814

Mazel, D., B. Dychinco, V. A. Webb, et J. Davies. 1998. « A Distinctive Class of Integron in the Vibrio Cholerae Genome ». *Science (New York, N.Y.)* 280(5363): 605-8. doi:10.1126/science.280.5363.605.

Mazel, Didier. 2006. « Integrons: Agents of Bacterial Evolution ». *Nature Reviews. Microbiology* 4(8): 608-20. doi:10.1038/nrmicro1462.

Mazón, G., J. M. Lucena, S. Campoy, A. R. Fernández de Henestrosa, P. Candau, et J. Barbé. 2004. « LexA-Binding Sequences in Gram-Positive and Cyanobacteria Are Closely Related ». *Molecular Genetics and Genomics* 271(1): 40-49. doi:10.1007/s00438-003-0952-x.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

McDonald, L. C., S. N. Banerjee, et W. R. Jarvis. 1999. « Seasonal Variation of Acinetobacter Infections: 1987-1996. Nosocomial Infections Surveillance System ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 29(5): 1133-37. doi:10.1086/313441.

Mellace, Matteo, Carlotta Ceniti, Mariachiara Paonessa, Anna C. Procopio, et Bruno Tilocca. 2024. « Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: An underestimated pathogen in veterinary medicine in Italy ».

Mellouli, A., B. Maamar, F. Bouzakoura, A.A. Messadi, et L. Thabet. 2021. « Colonisation Et Infection À Acinetobacter Baumannii Dans Une Unité De Réanimation Des Brûlés En Tunisie ». *Annals of Burns and Fire Disasters* 34(3): 218-25.

Mendes Moreira, Ana, Elodie Couvé-Deacon, Pauline Bousquet, Delphine Chainier, Thomas Jové, Marie-Cécile Ploy, et Olivier Barraud. 2019. « Proteae: a reservoir of class 2 integrons? » *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 74(6): 1560-62. doi:10.1093/jac/dkz079.

Mitchell, Kayleigh E., Jane F. Turton, et David H. Lloyd. 2018. « Isolation and Identification of Acinetobacter Spp. from Healthy Canine Skin ». *Veterinary Dermatology* 29(3): 240-e87. doi:10.1111/vde.12528.

Modi, Sheetal R., Henry H. Lee, Catherine S. Spina, et James J. Collins. 2013. « Antibiotic Treatment Expands the Resistance Reservoir and Ecological Network of the Phage Metagenome ». *Nature* 499(7457): 219-22. doi:10.1038/nature12212.

Mohd Sazlly Lim, S., A. Zainal Abidin, S. M. Liew, J. A. Roberts, et F. B. Sime. 2019a. « The Global Prevalence of Multidrug-Resistance among Acinetobacter Baumannii Causing Hospital-Acquired and Ventilator-Associated Pneumonia and Its Associated Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *The Journal of Infection* 79(6): 593-600. doi:10.1016/j.jinf.2019.09.012.

Mohd Sazlly Lim, S., A. Zainal Abidin, S. M. Liew, J. A. Roberts, et F. B. Sime. 2019b. « The Global Prevalence of Multidrug-Resistance among Acinetobacter Baumannii Causing Hospital-Acquired and Ventilator-Associated Pneumonia and Its Associated Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *The Journal of Infection* 79(6): 593-600. doi:10.1016/j.jinf.2019.09.012.

Moura, Alexandra, Thomas Jové, Marie-Cécile Ploy, Isabel Henriques, et António Correia. 2012. « Diversity of Gene Cassette Promoters in Class 1 Integrons from Wastewater Environments ». *Applied and Environmental Microbiology* 78(15): 5413-16. doi:10.1128/AEM.00042-12.

Movahedzadeh, Farahnaz, M. Joseph Colston, et Elaine O. Davis. 1997. « Characterization of Mycobacterium tuberculosis LexA: recognition of a Cheo (Bacillus-type SOS) box ». *Microbiology* 143(3): 929-36. doi:10.1099/00221287-143-3-929.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Naderi, Ghazal, Mahla Asadian, Pegah Afarinesh Khaki, Mohammadreza Salehi, Alireza Abdollahi, et Masoumeh Douraghi. 2023. « Occurrence of Acinetobacter baumannii genomic resistance islands (AbGRIs) in Acinetobacter baumannii strains belonging to global clone 2 obtained from COVID-19 patients ». *BMC Microbiology* 23: 234. doi:10.1186/s12866-023-02961-3.

Naderi, Ghazal, Mahla Asadian, Arash Seifi, Sedigheh Ghourchian, Malihe Talebi, Mohammad Rahbar, Alireza Abdollahi, et Masoumeh Douraghi. 2023. « Dissemination of the Acinetobacter baumannii isolates belonging to global clone 2 containing AbGRI resistance islands in a referral hospital ». *Microbiology Spectrum* 11(5): e05373-22. doi:10.1128/spectrum.05373-22.

Naseef Pathoor, Naji, Vijetha Valsa, Pitchaipillai Sankar Ganesh, et Rajesh Kanna Gopal. 2025. « From Resistance to Treatment: The Ongoing Struggle with Acinetobacter Baumannii ». *Critical Reviews in Microbiology*: 1-22. doi:10.1080/1040841X.2025.2497791.

Nasr, P. 2020. « Genetics, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii ». *The Journal of Hospital Infection* 104(1): 4-11. doi:10.1016/j.jhin.2019.09.021.

Nemec, A., T. De Baere, I. Tjernberg, M. Vaneechoutte, T. J. van der Reijden, et L. Dijkshoorn. 2001. « Acinetobacter Ursingii Sp. Nov. and Acinetobacter Schindleri Sp. Nov., Isolated from Human Clinical Specimens ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51(Pt 5): 1891-99. doi:10.1099/00207713-51-5-1891.

Nemec, Alexandr, Lenka Krizova, Martina Maixnerova, Tanny J. K. van der Reijden, Pieter Deschaght, Virginie Passet, Mario Vaneechoutte, Sylvain Brisse, et Lenie Dijkshoorn. 2011. « Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU) ». *Research in Microbiology* 162(4): 393-404. doi:10.1016/j.resmic.2011.02.006.

Nemec, Alexandr, Lenka Krizova, Martina Maixnerova, Ondrej Sedo, Sylvain Brisse, et Paul G. Higgins. 2015. « Acinetobacter seifertii sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex isolated from human clinical specimens ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65(Pt_3): 934-42. doi:10.1099/ijs.0.000043.

Nemec, Alexandr, Martin Musílek, Ondrej Šedo, Thierry De Baere, Martina Maixnerová, Tanny J. K. van der Reijden, Zbyněk Zdráhal, Mario Vaneechoutte, et Lenie Dijkshoorn. 2010. « Acinetobacter Bereziniae Sp. Nov. and Acinetobacter Guillouiae Sp. Nov., to Accommodate Acinetobacter Genomic Species 10 and 11, Respectively ».

Licence CC BY-NC-ND 4.0

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 60(Pt 4): 896-903. doi:10.1099/ijs.0.013656-0.

Nero, Thomas M., Triana N. Dalia, Joseph Che-Yen Wang, David T. Kysela, Matthew L. Bochman, et Ankur B. Dalia. 2018. « ComM Is a Hexameric Helicase That Promotes Branch Migration during Natural Transformation in Diverse Gram-Negative Species ». *Nucleic Acids Research* 46(12): 6099-6111. doi:10.1093/nar/gky343.

Nithichanon, Arnone, Chidchamai Kewcharoenwong, Hudadini Da-Oh, Sirithorn Surajinda, Aranya Khongmee, Surathinee Koosakunwat, Brendan W. Wren, et al. 2022. « Acinetobacter Nosocomialis Causes as Severe Disease as Acinetobacter Baumannii in Northeast Thailand: Underestimated Role of A. Nosocomialis in Infection ». *Microbiology Spectrum* 10(6): e0283622. doi:10.1128/spectrum.02836-22.

Nivina, Aleksandra, José Antonio Escudero, Claire Vit, Didier Mazel, et Céline Loot. 2016. « Efficiency of integron cassette insertion in correct orientation is ensured by the interplay of the three unpaired features of attC recombination sites ». *Nucleic Acids Research* 44(16): 7792-7803. doi:10.1093/nar/gkw646.

Nocera, Francesca Paola, Anna-Rita Attili, et Luisa De Martino. 2021. « Acinetobacter baumannii: Its Clinical Significance in Human and Veterinary Medicine ». *Pathogens* 10(2): 127. doi:10.3390/pathogens10020127.

Nunes-Düby, Simone E., Hyock Joo Kwon, Radhakrishna S. Tirumalai, Tom Ellenberger, et Arthur Landy. 1998. « Similarities and differences among 105 members of the Int family of site-specific recombinases ». *Nucleic Acids Research* 26(2): 391-406. doi:10.1093/nar/26.2.391.

Pailhoriès, H., C. Tiry, M. Eveillard, et M. Kempf. 2018. « Acinetobacter Pittii Isolated More Frequently than Acinetobacter Baumannii in Blood Cultures: The Experience of a French Hospital ». *The Journal of Hospital Infection* 99(3): 360-63. doi:10.1016/j.jhin.2018.03.019.

Partridge, Sally R. 2011. « Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria ». *FEMS Microbiology Reviews* 35(5): 820-55. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00277.x.

Partridge, Sally R., Gavin D. Recchia, Carol Scaramuzzi, Christina M. Collis, H. W. Stokes, et Ruth M. Hall. 2000. « Definition of the attI1 site of class 1 integrons ». *Microbiology* 146(11): 2855-64. doi:10.1099/00221287-146-11-2855.

Partridge, Sally R., Guy Tsafnat, Enrico Coiera, et Jonathan R. Iredell. 2009. « Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons ». *FEMS Microbiology Reviews* 33(4): 757-84. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00175.x.

Paton, R., R. S. Miles, J. Hood, S. G. B. Amyes, R. S. Miles, et S. G. B. Amyes. 1993. « ARI 1: β-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* ».

Licence CC BY-NC-ND 4.0

International Journal of Antimicrobial Agents 2(2): 81-87. doi:10.1016/0924-8579(93)90045-7.

Paulsen, I T, T G Littlejohn, P Rådström, L Sundström, O Sköld, G Swedberg, et R A Skurray. 1993. « The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37(4): 761-68. doi:10.1128/aac.37.4.761.

Pavlin, Anja, Gregor Bajc, Nadine Fornelos, Douglas F. Browning, et Matej Butala. 2022. « The Small DdrR Protein Directly Interacts with the UmuDAb Regulator of the Mutagenic DNA Damage Response in Acinetobacter Baumannii ». *Journal of Bacteriology* 204(3): e0060121. doi:10.1128/jb.00601-21.

Peleg, Anton Y., Harald Seifert, et David L. Paterson. 2008. « Acinetobacter Baumannii: Emergence of a Successful Pathogen ». *Clinical Microbiology Reviews* 21(3): 538-82. doi:10.1128/CMR.00058-07.

Pelletier, Mark R., Leila G. Casella, Jace W. Jones, Mark D. Adams, Daniel V. Zurawski, Karsten R. O. Hazlett, Yohei Doi, et Robert K. Ernst. 2013. « Unique Structural Modifications Are Present in the Lipopolysaccharide from Colistin-Resistant Strains of Acinetobacter baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57(10): 4831-40. doi:10.1128/aac.00865-13.

Pereira, Isabel Ladeira, et Daiane Drawanz Hartwig. 2025. « Unveiling the Role of Adhesin Proteins in Controlling Acinetobacter Baumannii Infections: A Systematic Review ». *Infection and Immunity* 93(2): e0034824. doi:10.1128/iai.00348-24.

Perez, Federico, et Usha Stiefel. 2022. « The Impact of Natural Transformation on the Acquisition of Antibiotic Resistance Determinants ». *mBio* 13(3): e0033622. doi:10.1128/mbio.00336-22.

Peymani, Amir, Safar Farajnia, Mohammad Reza Nahaei, Nasrollah Sohrabi, Laleh Abbasi, Khalil Ansarin, et Fatemeh Azhari. 2012. « Prevalence of Class 1 Integron among Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii in Tabriz, Northwest of Iran ». *Polish Journal of Microbiology* 61(1): 57-60. doi:10.33073/pjm-2012-007.

Piechaud, D., M. Piechaud, et L. Second. 1956. « [Proteolytic types of Moraxella lwoffi and Moraxella glucidolytica (Bacterium anitratum)] ». *Annales De l'Institut Pasteur* 90(4): 517-22.

Ploy, Marie-Cécile, François Denis, Patrice Courvalin, et Thierry Lambert. 2000. « Molecular Characterization of Integrons inAcinetobacter baumannii: Description of a Hybrid Class 2 Integron ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(10): 2684-88. doi:10.1128/aac.44.10.2684-2688.2000.

Poirel, Laurent, Alessandra Carattoli, Sandrine Bernabeu, Thomas Bruderer, Reno Frei, et Patrice Nordmann. 2010. « A Novel IncQ Plasmid Type Harbouring a Class 3 Integron

Licence CC BY-NC-ND 4.0

from Escherichia Coli ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65(8): 1594-98. doi:10.1093/jac/dkq166.

Pomba, Constança, Andrea Endimiani, Alexandra Rossano, Dolores Saial, Natacha Couto, et Vincent Perreten. 2014. « 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* 58(2): 1267-68. doi:10.1128/AAC.02527-13.

Post, Virginia, et Ruth M. Hall. 2009. « AbaR5, a Large Multiple-Antibiotic Resistance Region Found in Acinetobacter Baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53(6): 2667-71. doi:10.1128/AAC.01407-08.

Post, Virginia, Peter A. White, et Ruth M. Hall. 2010. « Evolution of AbaR-Type Genomic Resistance Islands in Multiply Antibiotic-Resistant Acinetobacter Baumannii ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65(6): 1162-70. doi:10.1093/jac/dkq095.

Prakash, Louise. 1974. « LACK OF CHEMICALLY INDUCED MUTATION IN REPAIR-DEFICIENT MUTANTS OF YEAST ». *Genetics* 78(4): 1101-18. doi:10.1093/genetics/78.4.1101.

Protic, Dragana, Aleksa Pejovic, Dragana Andjelkovic, Nina Djukanovic, Dragana Savic, Pavle Piperac, Ljiljana Markovic Denic, Marija Zdravkovic, et Zoran Todorovic. 2016. « Nosocomial Infections Caused by Acinetobacter Baumannii: Are We Losing the Battle? » *Surgical Infections* 17(2): 236-42. doi:10.1089/sur.2015.128.

Prudhomme, Marc, Laetitia Attaiech, Guillaume Sanchez, Bernard Martin, et Jean-Pierre Claverys. 2006. « Antibiotic Stress Induces Genetic Transformability in the Human Pathogen Streptococcus Pneumoniae ». *Science (New York, N.Y.)* 313(5783): 89-92. doi:10.1126/science.1127912.

Radman, M. 1975. « SOS Repair Hypothesis: Phenomenology of an Inducible DNA Repair Which Is Accompanied by Mutagenesis ». *Basic Life Sciences* 5A: 355-67. doi:10.1007/978-1-4684-2895-7_48.

Ramirez, Maria Soledad, Mark D. Adams, Robert A. Bonomo, Daniela Centrón, et Marcelo E. Tolmasky. 2011. « Genomic Analysis of Acinetobacter baumannii A118 by Comparison of Optical Maps: Identification of Structures Related to Its Susceptibility Phenotype ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55(4): 1520-26. doi:10.1128/aac.01595-10.

Ramírez, María Soledad, Cecilia Quiroga, et Daniela Centrón. 2005. « Novel Rearrangement of a Class 2 Integron in Two Non-Epidemiologically Related Isolates of *Acinetobacter Baumannii* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(12): 5179-81. doi:10.1128/AAC.49.12.5179-5181.2005.

Recchia, Gavin D., et Ruth M. Hall. 1995. « Plasmid Evolution by Acquisition of Mobile Gene Cassettes: Plasmid PIE723 Contains the AadB Gene Cassette Precisely Inserted at a

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Secondary Site in the IncQ Plasmid RSF1010 ». *Molecular Microbiology* 15(1): 179-87. doi:10.1111/j.1365-2958.1995.tb02232.x.

Reina, R., C. León-Moya, et J. Garnacho-Montero. 2022. « Treatment of Acinetobacter Baumannii Severe Infections ». *Medicina Intensiva* 46(12): 700-710. doi:10.1016/j.medine.2022.08.007.

Rezaee, Mohammad Ahangarzadeh, Vajihe Sheikhalizadeh, et Alka Hasani. 2011. « Detection of integrons among multi-drug resistant (MDR) Escherichia coli strains isolated from clinical specimens in northern west of Iran ». *Brazilian Journal of Microbiology* 42(4): 1308-13. doi:10.1590/S1517-838220110004000010.

Rice, Louis B. 2008. « Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE ». *The Journal of Infectious Diseases* 197(8): 1079-81. doi:10.1086/533452.

Rocha, E. P. C. (2016). Using Sex to Cure the Genome. *PLoS Biology*, *14*(3), e1002417. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002417

Roberts, M., et S. Schwarz. 2016. « Tetracycline and Phenicol Resistance Genes and Mechanisms: Importance for Agriculture, the Environment, and Humans. » *Journal of environmental quality* 45 2: 576-92. doi:10.2134/jeq2015.04.0207.

Rodríguez-Baño, J., S. Martí, S. Soto, F. Fernández-Cuenca, J. M. Cisneros, J. Pachón, A. Pascual, et al. 2008. « Biofilm Formation in Acinetobacter Baumannii: Associated Features and Clinical Implications ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 14(3): 276-78. doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01916.x.

Rodríguez-Minguela, Carlos M., Juha H. A. Apajalahti, Benli Chai, James R. Cole, et James M. Tiedje. 2009. « Worldwide Prevalence of Class 2 Integrases Outside the Clinical Setting Is Associated with Human Impact ». *Applied and Environmental Microbiology* 75(15): 5100-5110. doi:10.1128/AEM.00133-09.

Rowe-Magnus, Dean A., Anne-Marie Guerout, et Didier Mazel. 2002. « Bacterial Resistance Evolution by Recruitment of Super-Integron Gene Cassettes ». *Molecular Microbiology* 43(6): 1657-69. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x.

Roy, Subhasree, Goutam Chowdhury, Asish K. Mukhopadhyay, Shanta Dutta, et Sulagna Basu. 2022. « Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in Acinetobacter Baumannii Infection ». *Frontiers in Medicine* 9. doi:10.3389/fmed.2022.793615.

Sabour, Amal. 2023. « Global Risk Maps of Climate Change Impacts on the Distribution of Acinetobacter baumannii Using GIS ». *Microorganisms* 11(9): 2174. doi:10.3390/microorganisms11092174.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Saffarian, Azadeh, Marie Touchon, Céline Mulet, Régis Tournebize, Virginie Passet, Sylvain Brisse, Eduardo P. C. Rocha, Philippe J. Sansonetti, et Thierry Pédron. 2017. « Comparative Genomic Analysis of Acinetobacter Strains Isolated from Murine Colonic Crypts ». *BMC genomics* 18(1): 525. doi:10.1186/s12864-017-3925-x.

Sahl, Jason W., Mariateresa Del Franco, Spyros Pournaras, Rebecca E. Colman, Nabil Karah, Lenie Dijkshoorn, et Raffaele Zarrilli. 2015. « Phylogenetic and genomic diversity in isolates from the globally distributed Acinetobacter baumannii ST25 lineage ». *Scientific Reports* 5: 15188. doi:10.1038/srep15188.

Sati, Hatim, Elena Carrara, Alessia Savoldi, Paul Hansen, Jacopo Garlasco, Enrica Campagnaro, Simone Boccia, et al. 2025. « The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: A Prioritisation Study to Guide Research, Development, and Public Health Strategies against Antimicrobial Resistance ». *The Lancet Infectious Diseases* 25(9): 1033-43. doi:10.1016/S1473-3099(25)00118-5.

Schmidt, A. S., M. S. Bruun, I. Dalsgaard, et J. L. Larsen. 2001. « Incidence, Distribution, and Spread of Tetracycline Resistance Determinants and Integron-Associated Antibiotic Resistance Genes among Motile Aeromonads from a Fish Farming Environment ». *Applied and Environmental Microbiology* 67(12): 5675-82. doi:10.1128/AEM.67.12.5675-5682.2001.

Scoffone, Viola Camilla, Gabriele Trespidi, Giulia Barbieri, Arooba Arshad, Aygun Israyilova, et Silvia Buroni. 2025. « The Evolution of Antimicrobial Resistance in Acinetobacter Baumannii and New Strategies to Fight It ». *Antibiotics* 14(1): 85. doi:10.3390/antibiotics14010085.

Scott, PT, Kyle Petersen, MJ Fishbain, DW Craft, AJ Ewell, K Moran, DC Hack, et al. 2004. « Acinetobacter baumannii infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. Service members, 2002-2004 ». *JAMA The Journal of the American Medical Association* 292: 2964-66. doi:10.1001/jama.292.24.2964.

Seifert, H, L Dijkshoorn, P Gerner-Smidt, N Pelzer, I Tjernberg, et M Vaneechoutte. 1997. « Distribution of Acinetobacter Species on Human Skin: Comparison of Phenotypic and Genotypic Identification Methods ». *Journal of Clinical Microbiology* 35(11): 2819-25. doi:10.1128/jcm.35.11.2819-2825.1997.

Seputiene, Vaida, Justas Povilonis, et Edita Suziedeliene. 2012. « Novel Variants of AbaR Resistance Islands with a Common Backbone in Acinetobacter Baumannii Isolates of European Clone II ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56(4): 1969-73. doi:10.1128/AAC.05678-11.

Shaheli, M., M. Baseri Salehi, et N. Bahador. 2018. « The Influence of Integrons on Multidrug Resistant Acinetobacter Spp. Isolated from Environment and Clinical Samples ». *Tropical Biomedicine* 35(2): 354-64.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Shaker, Alaa A., Ahmed Samir, Hala M. Zaher, et Khaled A. Abdel-Moein. 2025. « The Burden of Acinetobacter Baumannii Among Pet Dogs and Cats with Respiratory Illness Outside the Healthcare Facilities: A Possible Public Health Concern ». *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)* 25(2): 118-24. doi:10.1089/vbz.2024.0082.

Sheck, Eugene, Andrey Romanov, Valeria Shapovalova, Elvira Shaidullina, Alexey Martinovich, Natali Ivanchik, Anna Mikotina, et al. 2023. « Acinetobacter Non-Baumannii Species: Occurrence in Infections in Hospitalized Patients, Identification, and Antibiotic Resistance ». *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 12(8): 1301. doi:10.3390/antibiotics12081301.

Sieniawski, Karol, Krzysztof Kaczka, Monika Rucińska, Ludmiła Gagis, et Lech Pomorski. 2013. « Acinetobacter Baumannii Nosocomial Infections ». *Polski Przeglad Chirurgiczny* 85(9): 483-90. doi:10.2478/pjs-2013-0075.

da Silva, Marcos Eduardo Passos, Maicon Aleandro da Silva Gomes, Renata Santos Rodrigues, Nucia Cristiane da Silva Lima, Anjo Gabriel Carvalho, Roger Lafontaine Mesquita Taborda, et Najla Benevides Matos. 2023. « Multidrug-resistant Acinetobacter spp. from hospital intensive care units in Brazilian Amazon ». *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 27(6): 103687. doi:10.1016/j.bjid.2023.103687.

Simo Tchuinte, Pierrette Landrie, Thibault Stalder, Silvia Venditti, Antoinette Ngandjio, Christophe Dagot, Marie-Cécile Ploy, et Olivier Barraud. 2016. « Characterisation of class 3 integrons with oxacillinase gene cassettes in hospital sewage and sludge samples from France and Luxembourg ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 48(4): 431-34. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.06.018.

Singh, Jennifer K., Felise G. Adams, et Melissa H. Brown. 2019. « Diversity and Function of Capsular Polysaccharide in Acinetobacter Baumannii ». *Frontiers in Microbiology* 9. doi:10.3389/fmicb.2018.03301.

Sladecek, Vladimir, David Senk, Petr Stolar, Jaroslav Bzdil, et Ondrej Holy. 2023. « Predominance of Acinetobacter Pseudolwoffii among Acinetobacter Species in Domestic Animals in the Czech Republic ». *Veterinarni Medicina* 68(11): 419-27. doi:10.17221/65/2023-VETMED.

Smet, Annemieke, Filip Boyen, Frank Pasmans, Patrick Butaye, Ann Martens, Alexandr Nemec, Pieter Deschaght, Mario Vaneechoutte, et Freddy Haesebrouck. 2012. « OXA-23-producing Acinetobacter species from horses: a public health hazard? » *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67(12): 3009-10. doi:10.1093/jac/dks311.

Soler, Nicolas, et Patrick Forterre. 2020. « Vesiduction: The Fourth Way of HGT ». *Environmental Microbiology* 22(7): 2457-60. doi:10.1111/1462-2920.15056.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Sonnevend, Ágnes, Akela Ghazawi, Noura Al Munthari, Martin Pitout, Mohammad Baraa Hamadeh, Rayhan Hashmey, Safinaz Khaleel Girgis, et al. 2013. « Characteristics of Epidemic and Sporadic Strains of Acinetobacter Baumannii Isolated in Abu Dhabi Hospitals ». *Journal of Medical Microbiology* 62(Pt 4): 582-90. doi:10.1099/jmm.0.055681-0.

Soriano, Alex, et Josep Mensa. 2022. « Mechanism of action of cefiderocol ». *Revista Española de Quimioterapia* 35(Suppl 2): 16-19. doi:10.37201/req/s02.02.2022.

Sørum, H., M. C. Roberts, et J. H. Crosa. 1992. « Identification and Cloning of a Tetracycline Resistance Gene from the Fish Pathogen Vibrio Salmonicida ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 36(3): 611-15. doi:10.1128/AAC.36.3.611.

Spellberg, Brad, et Robert A. Bonomo. 2013. « "Airborne Assault": A New Dimension in Acinetobacter Baumannii Transmission* ». *Critical Care Medicine* 41(8): 2042-44. doi:10.1097/CCM.0b013e31829136c3.

Stalder, Thibault, Olivier Barraud, Magali Casellas, Christophe Dagot, et Marie-Cecile Ploy. 2012. « Integron Involvement in Environmental Spread of Antibiotic Resistance ». *Frontiers in Microbiology* 3. doi:10.3389/fmicb.2012.00119.

Stalder, Thibault, Olivier Barraud, Thomas Jové, Magali Casellas, Margaux Gaschet, Christophe Dagot, et Marie- Cécile Ploy. 2014. « Quantitative and qualitative impact of hospital effluent on dissemination of the integron pool ». *The ISME Journal* 8(4): 768-77. doi:10.1038/ismej.2013.189.

Stietz, María Silvina, María Soledad Ramírez, Elisabet Vilacoba, Adriana Karina Merkier, Adriana Sara Limansky, Daniela Centrón, et Mariana Catalano. 2013. « Acinetobacter Baumannii Extensively Drug Resistant Lineages in Buenos Aires Hospitals Differ from the International Clones I-III ». *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 14: 294-301. doi:10.1016/j.meegid.2012.12.020.

Stokes, H. W., et R. M. Hall. 1989. « A Novel Family of Potentially Mobile DNA Elements Encoding Site-Specific Gene-Integration Functions: Integrons ». *Molecular Microbiology* 3(12): 1669-83. doi:10.1111/j.1365-2958.1989.tb00153.x.

Stokes, H. W., D. B. O'Gorman, Gavin D. Recchia, Maryam Parsekhian, et Ruth M. Hall. 1997. « Structure and Function of 59-Base Element Recombination Sites Associated with Mobile Gene Cassettes ». *Molecular Microbiology* 26(4): 731-45. doi:10.1046/j.1365-2958.1997.6091980.x.

Stokes, H. W., C. Tomaras, Yvonne Parsons, et Ruth M. Hall. 1993. « The Partial 3′-Conserved Segment Duplications in the Integrons In6 from pSa and In7 from pDGO100 Have a Common Origin ». *Plasmid* 30(1): 39-50. doi:10.1006/plas.1993.1032.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Sun, Bingbing, Haiyan Liu, Yu Jiang, Lei Shao, Sheng Yang, et Daijie Chen. 2020. « New Mutations Involved in Colistin Resistance in Acinetobacter baumannii ». *mSphere* 5(2): 10.1128/msphere.00895-19. doi:10.1128/msphere.00895-19.

Taddei, F, I Matic, et M Radman. 1995. « cAMP-dependent SOS induction and mutagenesis in resting bacterial populations. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92(25): 11736-40. doi:10.1073/pnas.92.25.11736.

Tan, Bernice Siu Yan, Lalit Mohan, Wanitda Watthanaworawit, T. Ngamprasertchai, François H. Nosten, Clare L. Ling, et Pablo Bifani. 2024. « Detection of florfenicol resistance in opportunistic Acinetobacter spp. infections in rural Thailand ». *Frontiers in Microbiology* 15. doi:10.3389/fmicb.2024.1368813.

Thomas, Christopher M., et Kaare M. Nielsen. 2005. « Mechanisms of, and Barriers to, Horizontal Gene Transfer between Bacteria ». *Nature Reviews Microbiology* 3(9): 711-21. doi:10.1038/nrmicro1234.

Thomsen, Jens, Najiba M. Abdulrazzaq, Hussain AlRand, Dean B. Everett, Abiola Senok, Godfred A. Menezes, et Carole Ayoub Moubareck. 2024. « Epidemiology and antimicrobial resistance trends of Acinetobacter species in the United Arab Emirates: a retrospective analysis of 12 years of national AMR surveillance data ». *Frontiers in Public Health* 11: 1245131. doi:10.3389/fpubh.2023.1245131.

Tien, Ni, Bang-Jau You, Hui-Lan Chang, Hsiu-Shen Lin, Chin-Yi Lee, Tung-Ching Chung, Jang-Jih Lu, et Chao-Chin Chang. 2012. « Comparison of Genospecies and Antimicrobial Resistance Profiles of Isolates in the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii Complex from Various Clinical Specimens ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56(12): 6267-71. doi:10.1128/AAC.01304-12.

Tuffet, Rémi, Gabriel Carvalho, Anne-Sophie Godeux, Fanny Mazzamurro, Eduardo P. C. Rocha, Maria-Halima Laaberki, Samuel Venner, et Xavier Charpentier. 2024. « Manipulation of natural transformation by AbaR-type islands promotes fixation of antibiotic resistance in Acinetobacter baumannii ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 121(39): e2409843121. doi:10.1073/pnas.2409843121.

Uwingabiye, Jean, Mohammed Frikh, Abdelhay Lemnouer, Fatna Bssaibis, Bouchra Belefquih, Adil Maleb, Souhail Dahraoui, et al. 2016. « Acinetobacter infections prevalence and frequency of the antibiotics resistance: comparative study of intensive care units versus other hospital units ». *The Pan African Medical Journal* 23: 191. doi:10.11604/pamj.2016.23.191.7915.

Valcek, Adam, Carsten Kröger, Rubén de Dios, Ronan R. McCarthy, Tom Coenye, M. Stephen Trent, Nabil Karah, et al. 2025. « Inter- and Intra-Bacterial Strain Diversity Remains the “Elephant in the (Living) Room” ». *npj Antimicrobials and Resistance* 3(1): 67. doi:10.1038/s44259-025-00138-8.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Van Looveren, M., H. Goossens, et ARPAC Steering Group. 2004. « Antimicrobial Resistance of Acinetobacter Spp. in Europe ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 10(8): 684-704. doi:10.1111/j.1469-0691.2004.00942.x.

Vaneechoutte, M., L. A. Devriese, L. Dijkshoorn, B. Lamote, P. Deprez, G. Verschraegen, et F. Haesebrouck. 2000. « Acinetobacter Baumannii-Infected Vascular Catheters Collected from Horses in an Equine Clinic ». *Journal of Clinical Microbiology* 38(11): 4280-81. doi:10.1128/JCM.38.11.4280-4281.2000.

Vaneechoutte, Mario, David M. Young, L. Nicholas Ornston, Thierry De Baere, Alexandr Nemec, Tanny Van Der Reijden, Emma Carr, Ingela Tjernberg, et Lenie Dijkshoorn. 2006. « Naturally Transformable Acinetobacter sp. Strain ADP1 Belongs to the Newly Described Species Acinetobacter baylyi ». *Applied and Environmental Microbiology* 72(1): 932-36. doi:10.1128/AEM.72.1.932-936.2006.

Versalovic, J, T Koeuth, et J R Lupski. 1991. « Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. » *Nucleic Acids Research* 19(24): 6823-31. doi:10.1093/nar/19.24.6823.

Vesel, Nina, Christian Iseli, Nicolas Guex, Alexandre Lemopoulos, et Melanie Blokesch. 2023. « DNA modifications impact natural transformation of Acinetobacter baumannii ». *Nucleic Acids Research* 51(11): 5661-77. doi:10.1093/nar/gkad377.

Vinué, Laura, Thomas Jové, Carmen Torres, et Marie-Cécile Ploy. 2011. « Diversity of class 1 integron gene cassette Pc promoter variants in clinical *Escherichia coli* strains and description of a new P2 promoter variant ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 38(6): 526-29. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.07.007.

Visca, Paolo, Harald Seifert, et Kevin J. Towner. 2011. « Acinetobacter Infection--an Emerging Threat to Human Health ». *IUBMB life* 63(12): 1048-54. doi:10.1002/iub.534.

Wang, Yang, Congming Wu, Qijing Zhang, Jing Qi, Hebing Liu, Yu Wang, Tao He, et al. 2012. « Identification of New Delhi Metallo-β-Lactamase 1 in Acinetobacter Lwoffii of Food Animal Origin ». *PLOS ONE* 7(5): e37152. doi:10.1371/journal.pone.0037152.

Webb, Hattie E., Marie Bugarel, Henk C. den Bakker, Kendra K. Nightingale, Sophie A. Granier, H. Morgan Scott, et Guy H. Loneragan. 2016. « Carbapenem-Resistant Bacteria Recovered from Faeces of Dairy Cattle in the High Plains Region of the USA ». *PLOS ONE* 11(1): e0147363. doi:10.1371/journal.pone.0147363.

Weber, Brent S., Christian M. Harding, et Mario F. Feldman. 2016. « Pathogenic Acinetobacter: from the Cell Surface to Infinity and Beyond ». *Journal of Bacteriology* 198(6): 880-87. doi:10.1128/JB.00906-15.

Wei, Quhao, Qingfeng Hu, Shanshan Li, Huoyang Lu, Guoqiang Chen, Beiqiong Shen, Ping Zhang, et Yonglie Zhou. 2014. « A Novel Functional Class 2 Integron in Clinical Proteus

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Mirabilis Isolates ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69(4): 973-76. doi:10.1093/jac/dkt456.

Wisplinghoff, Hilmar, Tobias Paulus, Marianne Lugenheim, Danuta Stefanik, Paul G. Higgins, Michael B. Edmond, Richard P. Wenzel, et Harald Seifert. 2012. « Nosocomial Bloodstream Infections Due to Acinetobacter Baumannii, Acinetobacter Pittii and Acinetobacter Nosocomialis in the United States ». *The Journal of Infection* 64(3): 282-90. doi:10.1016/j.jinf.2011.12.008.

Witkowski, Travis A., Alison N. Grice, DeAnna B. Stinnett, Whitney K. Wells, Megan A. Peterson, et Janelle M. Hare. 2016. « UmuDAb: An Error-Prone Polymerase Accessory Homolog Whose N-Terminal Domain Is Required for Repression of DNA Damage Inducible Gene Expression in Acinetobacter Baylyi ». *PloS One* 11(3): e0152013. doi:10.1371/journal.pone.0152013.

Wong, Darren, Travis B. Nielsen, Robert A. Bonomo, Paul Pantapalangkoor, Brian Luna, et Brad Spellberg. 2017. « Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of Challenges ». *Clinical Microbiology Reviews* 30(1): 409-47. doi:10.1128/CMR.00058-16.

Wozniak, Rachel A. F., et Matthew K. Waldor. 2010. « Integrative and Conjugative Elements: Mosaic Mobile Genetic Elements Enabling Dynamic Lateral Gene Flow ». *Nature Reviews Microbiology* 8(8): 552-63. doi:10.1038/nrmicro2382.

Xu, Lian, Yang Zhao, Yue Li, et Ji-Quan Sun. 2024. « Genomic and Transcriptomic Analyses Provide New Insights into the Allelochemical Degradation Preference of a Novel Acinetobacter Strain ». *Environmental Research* 246: 118145. doi:10.1016/j.envres.2024.118145.

Yang, Yu, An-Ni Zhang, You Che, Lei Liu, Yu Deng, et Tong Zhang. 2021. « Underrepresented high diversity of class 1 integrons in the environment uncovered by PacBio sequencing using a new primer ». *Science of The Total Environment* 787: 147611. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147611.

Yeh, Jih-Chao, Chin-Hao Yang, Prakash Kishore Hazam, Sanjay Prasad Selvaraj, You-Ying Lin, Chu-Yi Hsieh, Je-Wen Liou, et Jyh-Yih Chen. 2025. « Combination of Antimicrobial Peptide and Clinical Antibiotic Shows Enhanced Potency toward Acinetobacter Baumannii Infection ». *European Journal of Pharmacology* 999: 177683. doi:10.1016/j.ejphar.2025.177683.

Ying, Chunmei, Yongli Li, Yaping Wang, Bing Zheng, et Chengde Yang. 2015. « Investigation of the Molecular Epidemiology of Acinetobacter Baumannii Isolated from Patients and Environmental Contamination ». *The Journal of Antibiotics* 68(9): 562-67. doi:10.1038/ja.2015.30.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Yusuf, I., H. B. Idris, E. Skiebe, et G. Wilharm. 2025. « Local Genomic Epidemiology of Acinetobacter Baumannii Circulating in Hospital and Non-Hospital Environments in Kano, Northwest Nigeria ». *Current Microbiology* 82(7): 329. doi:10.1007/s00284-025-04304-z.

Zampaloni, C., Mattei, P., Bleicher, K., Winther, L., Thäte, C., Bucher, C., Adam, J.-M., Alanine, A., Amrein, K. E., Baidin, V., Bieniossek, C., Bissantz, C., Boess, F., Cantrill, C., Clairfeuille, T., Dey, F., Di Giorgio, P., du Castel, P., Dylus, D., … Bradley, K. A. (2024). A novel antibiotic class targeting the lipopolysaccharide transporter. *Nature*, *625*(7995), 566-571. https://doi.org/10.1038/s41586-023-06873-0

Zverlov, Vladimir V., et Wolfgang H. Schwarz. 1999. « Organization of the Chromosomal Region Containing the Genes *lexA* and *topA* in *Thermotoga neapolitana*. Primary Structure of LexA Reveals Phylogenetic Relevance ». *Systematic and Applied Microbiology* 22(2): 174-78. doi:10.1016/S0723-2020(99)80063-0.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Annexes

Annexe 1. Souches de *Acinetobacter spp*. isolées durant les différentes études 265

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Annexe 1. Souches de *Acinetobacter spp*. isolées durant les différentes études

N° de souche	Compartiment	Type de prélèvement	Espèce	Intégron	Etude
1	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	1 et 2
2	Humain	Vaginal	*A. baumannii*	/	1
3	Environnemental	Eau	*A. tandoii*	/	1 et 2
4	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
5	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
6	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
7	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
8	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
9	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
10	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	1
11	Environnemental	Terre	*A. dispersus*	/	
12	Environnemental	Terre	*A. gandensis*	/	
13	Environnemental	Terre	*A. dispersus*	/	
14	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
15	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
16	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
17	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	
18	Environnemental	Terre	*A. tandoii*	/	
19	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
20	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
21	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	Classe 1	
22	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
23	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	Classe 1	
24	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
25	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	/	
26	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
27	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
28	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
29	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
30	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
31	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
32	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
33	Humain	Pus profond	*A. baumannii*	/	
34	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	/	
35	Caprin	Rectal	*A. lwoffii*	/	
36	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
37	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
38	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
39	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
40	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	/	
41	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
42	Humain	Pus profond	*A. baumannii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

43	Humain	Pus profond	*A. baumannii*	/	
44	Humain	Respiratoire	*A. courvalinii*	/	
45	Humain	Respiratoire	*A. ursingii*	/	
46	Humain	Matériel divers	*A. genomospecies 3*	/	
47	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	
48	Humain	Urinaire	*A. ursingii*	/	
49	Caprin	Rectal	*A. schindleri*	/	
50	Humain	Hémoculture	*A. junii*	/	
51	Humain	Hémoculture	*A. lwoffii*	/	
52	Humain	Respiratoire	*A. pittii*	/	
53	Humain	Respiratoire	*A. genomospecies 3*	/	
54	Humain	Vaginal	*A. nosocomialis*	/	
55	Humain	Urinaire	*A. lwoffii*	/	
56	Caprin	Rectal	*A. lwoffii*	/	
57	Environnement clinique	Eau robinet	*A. ursingii*	/	
58	Humain	Pus superficiel	*A. calcoaceticus*	/	
59	Humain	Urinaire	*A. calcoaceticus*	/	
60	Humain	Pus profond	*A. johnsonii*	/	
61	Humain	Hémoculture	*A. haemolyticus*	/	
62	Caprin	Rectal	*A. lwoffii*	/	
63	Environnement clinique	Surface	*A. junii*	/	
64	Humain	Hémoculture	*A. radioresistens*	/	
65	Humain	Respiratoire	*A. calcoaceticus*	/	
66	Equin	Pus superficiel	*A. baumannii*	/	
67	Humain	Hémoculture	*A. radioresistens*	/	
68	Environnement clinique	Surfaces	*A. pittii*	/	
69	Environnement clinique	Surfaces	*A. haemolyticus*	/	
70	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
71	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	Classe 1	
72	Equin	Vaginal	*A. radioresistens*	/	
73	Equin	Vaginal	*A. radioresistens*	/	
74	Equin	Vaginal	*A. sp*	/	
75	Lapin	Oculaire	*A. lwoffii*	/	
76	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	Classe 1	
77	Equin	Vaginal	*A. johnsonii*	/	
78	Equin	Respiratoire	*A. lwoffii*	/	
79	Equin	Vaginal	*A. johnsonii*	Classe 1	
80	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
81	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
82	Caprin	Fèces	*A. calcoaceticus*	/	
83	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
84	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
85	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
86	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
87	Humain	Respiratoire	*A. ursingii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

88	Humain	Pus profond	*A. johnsonii*	/	
89	Humain	Pus profond	*A. baumannii*	/	
90	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
91	Humain	Biopsie	*A. guillouiae*	/	
92	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
93	Humain	Rectal	*A. pittii*	/	
94	Humain	Hémoculture	*A. lwoffii*	/	
95	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
96	Humain	Respiratoire	*A. junii*	/	
97	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
98	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
99	Humain	Bile	*A. johnsonii*	Classe 1	
100	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	
101	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	
102	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
103	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
104	Humain	Biopsie	*A. lactucae*	/	
105	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
106	Humain	Respiratoire	*A. ursingii*	/	
107	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
108	Humain	Biopsie	*A. baumannii*	/	
109	Equin	Vaginal	*A. radioresistens*	Classe 1	
110	Humain	Hémoculture	*A. lactucae*	/	
111	Humain	Hémoculture	*A. johnsonii*	/	
112	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
113	Humain	Rectal	*A. baumannii*	/	
114	Humain	Biopsie	*A. baumannii*	/	
115	Humain	Hémoculture	*A. schindleri*	/	
116	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
117	Humain	Respiratoire	*A. nosocomialis*	/	
118	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
119	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
120	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
121	Humain	Hémoculture	*A. towneri*	Classe 1	
122	Humain	Hémoculture	*A. nosocomialis*	/	
123	Humain	Respiratoire	*A. berezinae*	/	
124	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	1 et 4
125	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
126	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	/	1,00
127	Humain	Rectal	*A. calcoaceticus*	/	
128	Humain	Hémoculture	*A. radioresistens*	/	
129	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	1 et 4
130	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
131	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
132	Humain	Hémoculture	*A. lactucae*	/	1

Licence CC BY-NC-ND 4.0

133	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	Classe 2	1 et 4
134	Environnemental	Eau	*A. soli*		1
135	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
136	Caprin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
137	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
138	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
139	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
140	Aviaire	Fèces	*A. haemolyticus*	/	
141	Caprin	Fèces	*A. schindleri*	/	
142	Caprin	Fèces	*A. haemolyticus*	/	
143		Cutané	*A. baumannii*	/	
144	Equin	Cutané	*A. lwoffii*	/	
145	Féline	Pus superficiel	*A. baumannii*	/	
146	Féline	Urinaire	*A. radioresistens*	/	
147	Equin	Pus superficiel	*A. lwoffii*	Classe 1	
148	Equin	Oculaire	*A. pseudolwoffii*	/	
149	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
150	Equin	Cutané	*A. lwoffii*	Classe 1	
151	Faune sauvage	Cutané	*A. junii*	/	
152	Faune sauvage	Pus profond	*A. baumannii*	/	
153	Faune sauvage	Rectal	*A. baumannii*	/	
154	Caprin	Oculaire	*A. sp*	/	
155	Caprin	Pus profond	*A. bohemicus*	/	
156	Canin	Urinaire	*A. variabilis*	/	
157	Caprin	Lait	*A. variabilis*	/	
158	Equin	Respiratoire	*A. variabilis*	/	
159	/	Oculaire	*A. tandoii*	/	
160	Equin	Fèces	*A. pseudolwoffii*	/	
161	Equin	Respiratoire	*A. pseudolwoffii*	/	
162	Caprin	Vaginal	*A. indicus*	/	
163	Caprin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
164	Bovin	Oculaire	*A. lwoffii*	/	
165	Caprin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
166	Caprin	Pus profond	*A. baumannii*	/	
167	Caprin	Pus profond	*A. schindleri*	/	
168	Caprin	Pus profond	*A. pseudolwoffii*	/	
169	Caprin	Viande (PSPC)	*A. baumannii*	/	
170	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
171	Environnemental	Terre	*A. haemolyticus*	/	
172	Caprin	Respiratoire	*A. pseudolwoffii*	/	1 et 2
173	Caprin	Respiratoire	*A. gandensis*	/	
174	Caprin	Respiratoire	*A. pseudolwoffii*	/	
175	Caprin	Pus profond	*A. pseudolwoffii*	/	
176	Caprin	Respiratoire	*A. gandensis*	/	
177	Caprin	Respiratoire	*A. variabilis*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

178	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
179	Equin	Animal entier	*A. radioresistens*	/	
180	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
181	/		*A. schindleri*	/	
182	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	
183	/		*A. lwoffii*	/	
184	/		*A. variabilis*	/	
185	/		*A. pseudolwoffii*	/	
186	/		*A. lwoffii*	/	
187	/		*A. lwoffii*	/	
188	/		*A. lwoffii*	/	
189	Caprin	Fèces	*A. gandensis*	/	
190	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
191	Environnemental	Terre	*A. kookii*	/	
192	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
193	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
194	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
195	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
196	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
197	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
198	Environnemental	Terre	*A. kookii*	/	
199	Environnemental	Terre	*A. gandensis*	/	
200	Environnemental	Terre	*A. kookii*	/	
201	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
202	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
203	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
204	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
205	Environnemental	Terre	*A. tandoii*	/	
206	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
207	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
208	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
209	Aviaire	Fèces	*A. baumannii*	/	
210	Lapin	Fèces	*A. guillouiae*	/	
211	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
212	/		*A. lwoffii*	/	
213	/		*A. lwoffii*	/	
214	/		*A. beijerindeii*	Classe 1	
215	/		*A. lwoffii*	/	
216	/		*A. sp*	/	
217	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
218	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
219	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
220	Lapin	Fèces	*A. calcoaceticus*	/	
221	Caprin	Fèces	*A. pseudolwoffii*	/	
222	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

223	Equin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
224	Caprin	Fèces	*A. variabilis*	/	
225	Caprin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
226	Caprin	Fèces	*A. lwoffii*	/	
227	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
228	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
229	Environnemental	Terre	*A. tandoii*	/	
230	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
231	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
232	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
233	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
234	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
235	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
236	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
237	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
238	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
239	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
240	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
242	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
243	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
244	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
245	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
246	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
247	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
248	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
249	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
250	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
251	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
252	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
253	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
254	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
255	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
256	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
257	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	
258	Environnemental	Terre	*A. sp*	/	
259	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	
260	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
261	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
262	Caprin	Vaginal	*A. gandensis*	/	
263	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
264	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
265	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
266	Caprin	Vaginal	*A. pseudolwoffii*	/	
267	Caprin	Vaginal	*A. indicus*	/	
268	Equin	Vaginal	*A. lwoffii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

269	Caprin	Urinaire	*A. pseudolwoffii*	/	
270	Aviaire	Pus profond	*A. baumannii*	/	
271	Primate	Rectal	*A. gandensis*	/	
272	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
273	Environnemental	Terre	*A. celticus*	/	
274	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
275	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
276	Environnemental	Terre	*A. cumulans*	/	
277	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
278	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
279	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
280	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
281	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
282	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
283	Environnemental	Terre	*A. bohemicus*	/	
284	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
285	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
286	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
287	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
288	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
289	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
290	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
291	Environnemental	Terre	*A. guillouiae*	/	
292	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
293	Environnemental	Terre	*A. johnsonii*	/	
294	Environnemental	Terre	*A. sichuanensis*	/	
295	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	
296	Environnemental	Terre	*A. bouvetii*	/	
297	Environnemental	Eau	*A. dispersus*	/	
298	Environnemental	Eau	*A. guillouiae*	/	
299	Environnemental	Eau	*A. dispersus*	/	
300	Environnemental	Terre	*A. sichuanensis*	/	
350	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
351	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
352	Environnemental	Eau	*A. chinensis*	/	
353	Environnemental	Eau	*A. calcoaceticus*	/	
354	Environnemental	Eau	*A. baumannii*	/	
355	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
356	Environnemental	Eau	*A. calcoaceticus*	/	
357	Environnemental	Eau	*A. modestus*	/	
358	Environnemental	Eau	*A. modestus*	/	
359	Environnemental	Eau	*A. calcoaceticus*	/	
360	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
361	Environnemental	Eau	*A. calcoaceticus*	/	
362	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

363	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
364	Environnemental	Eau	*A. guillouiae*	/	
365	Environnemental	Eau	*A. calcoaceticus*	/	
366	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
367	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
368	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
370	Environnemental	Eau	*A. bohemicus*	/	
371	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
372	Environnemental	Eau	*A. guillouiae*	/	
373	Environnemental	Eau	*A. sichuanensis*	/	
374	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
375	Environnemental	Eau	*A. bouvetii*	/	
376	Environnemental	Eau	*A. johnsonii*	/	
377	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
378	Environnemental	Terre	*A. calcoaceticus*	/	
379	Environnemental	Eau	*A. kookii*	/	
380	Environnemental	Eau	*A. gandensis*	/	
381	Environnemental	Eau	*A. kookii*	/	
382	Environnemental	Eau	*A. sichuanensis*	/	
384	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	Classe 2	
385	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
386	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
387	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	Classe 2	
388	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	Classe 2	
389	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
390	Environnement clinique	Ecouvillon	*A. baumannii*	Classe 2	
391	Environnement clinique	Matelas DV	*A. baumannii*	Classe 2	
392	Environnement clinique	Matelas DV (dessous)	*A. baumannii*	Classe 2	
393	Environnement clinique	Picco C11850076	*A. baumannii*	Classe 2	
394	Environnement clinique	Bair Hugger 20153258	*A. baumannii*	Classe 2	
395	Environnement clinique	Bair Hugger 201810520	*A. baumannii*	Classe 2	
396	Environnement clinique	Filtre de reprise côté fenêtres	*A. baumannii*	Classe 2	
397	Environnement clinique	Filtre de reprise côté porte	*A. baumannii*	Classe 2	4
398	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
399	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	Classe 2	
400	Environnement clinique	Matériel de kiné	*A. baumannii*	Classe 2	
401	Environnement clinique	Gélose de décubitus ventral	*A. baumannii*	Classe 2	
402	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
403	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
404	Environnement clinique	Respirateur	*A. baumannii*	Classe 2	
405	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	Classe 2	
407	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
408	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
409	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	Classe 2	
410	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	Classe 2	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

411	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	Classe 2	
412	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
413	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
414	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 1/ Classe 2	
415	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
416	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
417	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
418	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
419	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	Classe 2	
420	Humain	Rectal	*A. baumannii*	Classe 2	
421	Humain	Matériel divers	*A. baumannii*	Classe 2	
1MSC	Humain	Pus superficiel	*A. pittii*	/	1 et 5
2MSC	Humain	Respiratoire	*A. baumannii*	/	
3MSC	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
4MSC	Humain	Matériel divers	*A. ursingii*	/	
5MSC	Humain	Vaginal	*A. baumannii*	/	
6MSC	Humain	Vaginal	*A. baumannii*	/	
7MSC	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
8MSC	Humain	Respiratoire	*A. johnsonii*	/	
9MSC	Humain	Urinaire	*A. lwoffii*	/	
10MSC	Humain	Respiratoire	*A. pittii*	/	
11MSC	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
12MSC	Humain	Hémoculture	*A. guillouiae*	/	
13MSC	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
14MSC	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
15MSC	Humain	Respiratoire	*A. ursingii*	/	
16MSC	Humain	Hémoculture	*A. baumannii*	/	
17MSC	Humain	Pus superficiel	*A. baumannii*	/	
18MSC	Humain	Respiratoire	*A. pittii*	/	
19MSC	Humain	Hémoculture	*A. parvus*	/	
20MSC	Humain	Matériel divers	*A. ursingii*	/	
21MSC	Humain	Urinaire	*A. baumannii*	/	
22MSC	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
23MSC	Humain	Hémoculture	*A. radioresistens*	/	
24MSC	Humain	Respiratoire	*A. pittii*	/	
25MSC	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
26MSC	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
27MSC	Humain	Respiratoire	*A. pittii*	/	
28MSC	Humain	Hémoculture	*A. pittii*	/	
29MSC	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
30MSC	Humain	Pus superficiel	*A. ursingii*	/	
31MSC	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
32MSC	Humain	Vaginal	*A. baumannii*	/	
33MSC	Humain	Matériel divers	*A. pittii*	/	
34MSC	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

35MSC	Humain	Vaginal	*A. baumannii*	/	
36MSC	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	
37MSC	Humain	Hémoculture	*A. nosocomialis*	/	
38MSC	Humain	Hémoculture	*A. ursingii*	/	
39MSC	Humain	Pus profond	*A. baumannii*	/	
40MSC	Humain	Urinaire	*A. pittii*	/	
1dMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. pittii*	/	
1eMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. pittii*	/	
1p11MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
1p12MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
1p13MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
1p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. guillouiae*	/	
1p2MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. guillouiae*	/	
1p3MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. guillouiae*	/	
2g1MSC	Environnement clinique	Siphon auge commune gauche (post)	*A. ursingii*	/	
2g2MSC	Environnement clinique	Siphon auge commune gauche (post)	*A. ursingii*	/	
8p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
8p5MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. johnsonii*	/	
8p6MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. johnsonii*	/	
8p7MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
9cMSC	Environnement clinique	Poignées de lit	*A. lwoffii*	/	
9dMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
9eMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. ursingii*	/	
9p2MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
9p7MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
10cMS	Environnement clinique	Siphon évier	*A. ursingii*	/	5
11dMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. ursingii*	/	
11eMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
11p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
11p2MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
12dMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. junii*	/	
12eMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. ursingii*	/	
12p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	Classe 1	
12p2MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. johnsonii*	Classe 1	
12p6MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
12p8MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. johnsonii*	/	
12p9MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	Classe 1	
17e1MSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
17e8MSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
17g1MSC	Environnement clinique	Siphon douche commune	*A. johnsonii*	/	
18d1MSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. pittii*	/	
18d2MSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. pittii*	/	
18p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. pittii*	/	
22bMSC	Environnement clinique	Siphon douche commune	*A. ursingii*	/	
22dMSC	Environnement clinique	Siphon douche commune	*A. lactucae*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

23aMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
23daMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dbMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dcMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. pittii*	/	
23ddMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23deMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dfMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dgMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. proteolyticus*	/	
23djMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. pittii*	/	
23dnMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dqMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dvMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dwMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. johnsonii*	/	
23dxMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. pittii*	/	
23gMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
23p10MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
23p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
23p5MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. gyllenbergii*	/	
23p9MSC	Environnement clinique	Siphon douche (post)	*A. ursingii*	/	
26bMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. lactucae*	/	
26cMSC	Environnement clinique	Siphon douche	*A. pittii*	/	
26p1MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
26p5MSC	Environnement clinique	Siphon évier (post)	*A. ursingii*	/	
27bMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. lactucae*	/	
28aMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
28dMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. ursingii*	/	
28kMSC	Environnement clinique	Siphon douche commune	*A. ursingii*	/	
28mMSC	Environnement clinique	Siphon douche commune	*A. ursingii*	/	
28p1MSC	Environnement clinique	Siphon douche commune (post)	*A. pittii*	/	
29aMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. junii*	/	
29fMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. johnsonii*	/	
33aMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. pittii*	/	
33bMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. pittii*	/	
33iMSC	Environnement clinique	Siphon évier	*A. ursingii*	/	
G1MSC	Environnemental	Effluent D1	*A. johnsonii*	/	
G2MSC	Environnemental	Effluent D1	*A. piscicola*	/	
G3MSC	Environnemental	Effluent D1	*A. johnsonii*	Classe 1	
G4MSC	Environnemental	Effluent D1	*A. baumannii*	/	
G5MSC	Environnemental	Effluent D1	*A. wuhouensis*	/	
D1MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. dispersus*	/	
D2MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. bouvetii*	/	
D3MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. johnsonii*	/	
D4MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. guillouiae*	/	
D6MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. guillouiae*	/	
D10MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. johnsonii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

D16MSC	Environnemental	Effluent D2	*A. guillouiae*	/	
D19MSC	Environnemental	D2	*A. johnsonii*	/	
D20MSC	Environnemental	D2	*A. johnsonii*	/	
D21MSC	Environnemental	D2	*A. bouvetii*	/	
D22MSC	Environnemental	D2	*A. pragensis*	/	
D23MSC	Environnemental	D2	*A. cumulans*	/	
D24MSC	Environnemental	D2	*A. guillouiae*	/	
S1MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. gandensis*	/	
S2MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S3MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S4MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. baumannii*	/	
S5MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. guillouiae*	/	
S6MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. kookii*	/	
S7MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. bouvetii*	/	
S8MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S9MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S10MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S12MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S13MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. bouvetii*	/	
S15MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. gandensis*	/	
S16MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. bouvetii*	/	
S17MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. gandensis*	/	
S18MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sp*	/	
S19MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S20MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sichuanensis*	/	
S21MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S22MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sp*	/	
S23MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sp*	/	
S24MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. pragensis*	/	
S25MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sp*	/	
S26MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S27MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S28MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. sichuanensis*	/	
S29MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S30MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S31MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S32MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S33MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S34MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S35MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S36MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
S37MSC	Environnemental	Entrée STEP	*A. johnsonii*	/	
P1MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P2MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P3MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

P4MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. gandensis*	/	
P5MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P6MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. gandensis*	/	
P7MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. pittii*	/	
P8MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P9MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P10MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P11MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. baylyi*	/	
P12MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P13MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P14MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P15MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P16MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P17MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. kookii*	/	
P18MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P19MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P1MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P20MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P21MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P22MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P23MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P24MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P25MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. sp*	/	
P26MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. pragensis*	/	
P27MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P28MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P29MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P30MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. bouvetii*	/	
P31MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. cumulans*	/	
P32MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P33MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P34MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P35MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. cumulans*	/	
P36MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. cumulans*	/	
P37MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. sp*	/	
P38MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. pragensis*	/	
P39MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P40MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. bohemicus*	/	
P41MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. wuhouensis*	/	
P42MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P44MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P45MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P46MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P47MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. bouvetii*	/	
P48MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

P49MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. tandoii*	/	
P50MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P51MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. johnsonii*	/	
P52MSC	Environnemental	Sortie STEP	*A. bohemicus*	/	
M1MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. bohemicus*	/	1, 2 et 5
M2MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. baumannii*	/	
M3MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. johnsonii*	/	
M4MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. johnsonii*	/	
M5MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. bohemicus*	/	
M6MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. guillouiae*	/	
M7MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. johnsonii*	/	
M8MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. piscicola*	/	
M9MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. albensis*	/	
M10MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. piscicola*	/	
M11MSC	Environnemental	Amont Vienne	*A. pragensis*	/	
V1MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V2MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V3MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V4MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V5MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V6MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V7MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V8MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V9MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. tandoii*	/	
V10MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V11MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V12MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. bouvetii*	/	
V13MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V14MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V15MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V16MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. pittii*	/	
V17MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V18MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. bohemicus*	/	
V19MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V20MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. johnsonii*	/	
V21MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. sp*	/	
V22MSC	Environnemental	Aval vienne	*A. sp*	/	
V23MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V24MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. cumulans*	/	
V25MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V26MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V27MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V28MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V29MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V30MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. cumulans*	/	

Licence CC BY-NC-ND 4.0

V31MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V32MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V33MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V34MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V35MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V36MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V37MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V38MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. cumulans*	/	
V39MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V40MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	
V41MSC	Environnemental	Aval Vienne	*A. johnsonii*	/	

Légende :

- Environnement Limoges
- Humain CHU Limoges
- Environnement clinique CHU Limoges
- Animale
- Animale MT
- Animales JLZ
- CHU Bordeaux
- Environnement JLZ
- Effluents hospitaliers et STEP

La première colonne indique le numéro de la souche et la couleur l'origine d'isolement. Le dégradé de bleu indique les souches isolées au sein des CHU (patients et leur environnement clinique), le dégradé de marron les souches « animales » et le dégradé de vert les souches isolées de l'environnement. La deuxième colonne indique l'origine de la souche avec le type de prélèvement indiqué dans la troisième colonne. Par la suite sont indiquées, l'espèce ainsi que la présence ou l'absence d'un intégron. Enfin la dernière colonne indique dans qu'elle(s) étude(s) étaient incluses les souches.

Licence CC BY-NC-ND 4.0

Epidémiologie One-Health et dynamique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter spp.*

Acinetobacter baumannii est un pathogène opportuniste souvent multi-résistant, et responsable d'infections chez l'homme et l'animal et qui est aussi retrouvé dans l'environnement. Si *A. baumannii* a fait l'objet de nombreuses études, il existe peu de donnée sur les autres espèces du genre *Acinetobacter* notamment dans un contexte One-Health. Ces bactéries sont caractérisées par une grande plasticité génétique et sont capables d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) grâce à des éléments génétiques tels que les intégrons. L'acquisition de ces GRA via les intégrons est induite en réponse aux dommages à l'ADN, laquelle est principalement régulée chez *Acinetobacter,* par deux protéines spécifiques du genre : UmuDAb et DdrR. Ce travail de thèse avait pour objectifs (i) d'identifier les niches écologiques des différentes espèces de *Acinetobacter spp.* par une approche intégrée One-Health, (ii) d'étudier le rôle potentiel des protéines UmuDAb et DdrR dans la régulation de l'intégrase d'intégrons chez *A. baumannii*. Pour répondre à notre premier objectif, nous avons isolé et caractérisé des souches de *Acinetobacter spp*. isolées de différents environnements. Ainsi nous avons mis en évidence un tropisme des espèces de *Acinetobacter spp*. selon leur réservoir, mais aussi le rôle de l'environnement clinique des patients dans la dissémination et la persistance des souches du genre *Acinetobacter* en milieu hospitalier. Pour notre deuxième objectif, nous avons étudié le rôle des protéines UmuDAb et DdrR dans la régulation du gène de l'intégrase d'intégron chez *A. baumannii*. Nous avons montré que UmuDAb, peut remplacer le régulateur habituel de l'intégrase, LexA absent chez *A. baumannii*, en se fixant à la boîte LexA dans la région promotrice de l'intégrase réprimant ainsi son expression. Ce travail enrichit la connaissance de l'écologie et de la résistance aux antibiotiques chez le genre Acinetobacter, permettant de mieux cibler les stratégies pour limiter sa propagation.

Mots-clés : *Acinetobacter spp., résistance aux antibiotiques, One-Health, intégrons, protéine UmuDAb*

One-Health epidemiology and dynamics of antibiotic resistance in *Acinetobacter spp*

Acinetobacter baumannii is an opportunistic pathogen that is often multi-resistant and responsible for infections in humans and animals, and is also found in the environment. While *A. baumannii* has been the subject of numerous studies, there is little data on other species of the *Acinetobacter* genus, particularly in a One-Health context. These bacteria are characterized by high genetic plasticity and are capable of acquiring antibiotic resistance genes (ARGs) through genetic elements such as integrons. The acquisition of these ARGs via integrons is induced in response to DNA damage, which is mainly regulated in *Acinetobacter* by two species-specific proteins: UmuDAb and DdrR. The objectives of this thesis were (i) to identify the ecological niches of different *Acinetobacter spp*. species using an integrated One-Health approach, and (ii) to study the potential role of UmuDAb and DdrR proteins in the regulation of integron integrase in *A. baumannii*. To meet our first objective, we isolated and characterized strains of *Acinetobacter spp*. isolated from different environments. We thus demonstrated a tropism of *Acinetobacter spp*. species according to their reservoir, but also the role of the clinical environment of patients in the spread and persistence of *Acinetobacter* strains in hospitals. For our second objective, we studied the role of the UmuDAb and DdrR proteins in the regulation of the integron integrase gene in *A. baumannii*. We showed that UmuDAb can replace the usual integrase regulator, LexA, which is absent in *A. baumannii*, by binding to the LexA box in the integrase promoter region, thereby repressing its expression. This work enriches our knowledge of the ecology and antibiotic resistance of the *Acinetobacter* genus, enabling us to better target strategies to limit its spread.

Keywords: *Acinetobacter spp.*, *antibiotic resistance, One-Health, integron, UmuDAb protein*