

*République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou  
Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques  
Département biochimie-microbiologie*



*Mémoire de fin d'études*

*En vue d'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques*

*Spécialité : Microbiologie Appliquée*

*Thème*

**Activité antibactérienne de deux huiles essentielles du  
genre *Salvia* vis-à-vis des souches d'*Acinetobacter  
baumannii* XDR du CHU de Tizi-Ouzou**

*Réalisé par :*

BELHOCINE Romeissa  
KHELOUI Thinhinane  
REZZOUK Imane

*Composition du jury*

**Président : M<sup>r</sup>. SEBBANE. H**

**Maitre de conférence de classe B**

**Examineur : Pr. HOUALI. K**

**Professeur**

**Promoteur : M<sup>r</sup>. BARIZ. K**

**Maitre de conférence de classe A**

**Co-promoteur : M<sup>r</sup>. SAOUDI. B**

**Doctorant**

**Année universitaire : 2023/2024**

## **Remerciement**

*Avant tout, on remercie **Allah** le miséricordieux, qui nous a doté de volonté, du courage, de force et patience pour pouvoir continuer dans les moments difficiles, de nous avoir aidé à franchir tous les obstacles pour achever ce modeste travail.*

*Nous remercions notre encadreur **Mr. Karim BARIZ**, d'avoir accepté de nous encadrer. On vous remercie pour votre aide, orientation et tolérance, et surtout pour votre disponibilité malgré vos obligations professionnelles. Veuillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect. Votre passion pour la recherche a été une véritable source d'inspiration.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à tous les doctorants du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie de l'Université de Tizi-Ouzou, en particulier à notre co-encadrant, le doctorant **Bilal SAOUDI**, pour qui aucun mot ne saurait exprimer pleinement notre gratitude. Ses conseils éclairés, sa rigueur scientifique et ses encouragements constants ont été d'une valeur inestimable tout au long de cette recherche. Grâce à son expérience, sa grande disponibilité et son suivi attentif, il nous a permis d'approfondir nos connaissances et de mener à bien ce mémoire.*

*Que messieurs les membres du jury le **P. HOUALI.K** et **M. SEBBANE.H** trouvent ici l'expression de notre reconnaissance pour avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Chers parents, merci pour votre amour et votre soutien indéfectibles. Votre présence réconfortante et vos encouragements constants ont été notre plus grande source de motivation. Grâce à vous, nous avons pu traverser les moments difficiles et célébrer les réussites. Votre confiance en nous, nous a donné la force d'aller de l'avant et de poursuivre nos rêves. Nous vous serons éternellement reconnaissantes pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour notre bien-être et notre réussite. Vous resterez à jamais une inspiration pour nous. Merci du fond du cœur pour votre dévouement sans faille.*

*Un petit bout de chemin certes mais un grand enrichissement*

## **SOMMAIRE**

**Remerciement**

**Résumé**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction .....1**

**Partie 01 : Synthèse bibliographique**

**Chapitre 01 : *Acinetobacter baumannii* et sa résistance aux antibiotiques**

**I. Généralités sur *Acinetobacter baumannii* ..... 3**

I.1. Historique et taxonomie .....3

I.2. Classification .....4

I.3. Habitat .....4

I.4. Caractères bactériologiques .....4

I.4.1. Caractères morphologiques .....4

I.4.2. Caractères culturels .....5

I.4.3. Caractères biochimiques .....6

I.4.4. Caractères génotypiques .....7

I.5. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène .....7

I.5.1. Les protéines de la membrane externe (OMPs) .....7

I.5.2. Les capsules bactériennes .....7

I.5.3. Les pili .....7

I.5.4. Les phospholipases .....7

I.5.5. Formation de biofilm .....8

I.5.6. Les systèmes de sécrétion .....8

I.5.7. L'acquisition du fer : .....8

**II. La résistance aux antibiotiques ..... 8**

II.1. Type de résistance .....9

II.1.1. Résistance naturelle .....9

II.1.2. Résistance acquise.....	9
II.2. Définition des termes MDR, XDR et PDR.....	10
II.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques .....	10
II.4. La résistance chez <i>A.baumannii</i> .....	11
II.4.1. Le phénotype sauvage d' <i>A.baumannii</i> (résistance naturelle) .....	11
II.4.2. La résistance acquise chez <i>A.baumannii</i> .....	12

## **Chapitre 02: Les huiles essentielles et leurs effets synergiques**

<b>1. Définition .....</b>	<b>18</b>
<b>2. Composition chimique des HEs .....</b>	<b>18</b>
<b>3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....</b>	<b>20</b>
3.1. Méthodes conventionnelles .....	20
3.2. Méthodes innovantes.....	21
<b>4. Activité antibactérienne des huiles essentielles .....</b>	<b>23</b>
<b>5. Mode d'action des huiles essentielles.....</b>	<b>23</b>
<b>6. Les huiles essentielles étudiées .....</b>	<b>24</b>
6.1. Huile essentielle de <i>Salvia jordanii</i> J.B.Walker.....	24
6.1.1. Classification et taxonomie .....	24
6.1.2. Description de la plante.....	24
6.1.3. Composition chimique et activités antimicrobiennes .....	24
6.2. Huile essentielle de <i>Salvia Officinalis</i> .L.....	25
6.2.1. Classification et taxonomie .....	25
6.2.2. Description de la plante.....	25
6.2.3. Composition chimique et activités antimicrobiennes .....	26
<b>7. Synergie entre les HEs et les ATB et leur mécanisme d'action.....</b>	<b>26</b>

## **Partie 02: Partie expérimentale**

<b>I. Matériel et méthodes .....</b>	<b>28</b>
I.1. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles .....	28
I.2. Isolats bactériens.....	29
I.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques .....	31
I.4. Détection de la production de carbapénèmases.....	32
I.5. Activité antibactérienne des HEs seules et en association avec des antibiotiques .....	33

I.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles .....	34
I.7. Analyse statistique .....	35
<b>II. Résultats et discussion.....</b>	<b>36</b>
II.1. Extraction des huiles essentielles .....	36
II.2. Isolement et identification des souches .....	36
II.3. Antibiogramme.....	37
II.4. Détection phénotypique de carbapénémases.....	38
II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles .....	39
II.6. Combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques.....	41
<b>Conclusion .....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>46</b>
<b>Annexe 01.....</b>	<b>56</b>
<b>Annexe 02.....</b>	<b>57</b>

## Résumé

*Acinetobacter baumannii*, une bactérie gram-négatif, opportuniste particulièrement problématique en raison de sa multirésistance aux antibiotiques, sa capacité à survivre longtemps sur diverses surfaces, ainsi que son impact sur les patients hospitalisés. Face à cette menace croissante, la recherche se tourne vers des alternatives thérapeutiques, notamment l'utilisation d'huiles essentielles. Ces dernières sont des mélanges complexes de composés volatils d'origine végétale, qui présentent des propriétés antimicrobiennes, et montrent des effets synergiques prometteurs lorsqu'elles sont combinées avec des antibiotiques conventionnels. Dans ce contexte, cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia jordanii* J.B Walker et de *Salvia officinalis* L., seules et en combinaison avec des antibiotiques contre des souches cliniques d'*A. baumannii* extrêmement résistantes aux antibiotiques. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode de l'entraînement à la vapeur. L'activité antibactérienne des huiles seules et combinée a été évaluée par la technique de diffusion sur gélose. Les résultats ont révélé une activité antibactérienne modérée pour les deux huiles essentielles seules. Cependant, l'exploration des effets combinés de ces huiles essentielles avec les antibiotiques, a montré des associations synergiques très intéressantes notamment, avec la ciprofloxacine et l'amikacine. Cela démontre ainsi, l'intérêt d'utiliser ces huiles pour élaborer des adjuvants aux antibiotiques ayant des cibles intracellulaires, pour améliorer leur efficacité et combattre ainsi les bactéries résistantes.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii*, carbapénèmases, huile essentielle, *Salvia jordanii* J.B Walker, *Salvia officinalis* L. , synergie, XDR.

## Abstract

*Acinetobacter baumannii*, a gram-negative opportunistic bacterium, is particularly problematic due to its multidrug resistance, including to last-resort antibiotics, its ability to survive for long periods on various surfaces, and its impact on hospitalized patients. Faced with this growing threat, research is turning towards therapeutic alternatives, notably the use of essential oils. These are complex mixtures of volatile compounds of plant origin, which exhibit antimicrobial properties and show promising synergistic effects when combined with conventional antibiotics. In this context, this study aims to evaluate the antibacterial activity of essential oils from *Salvia jordanii* J.B Walker and *Salvia officinalis*, alone and in combination with antibiotics against extremely drug resistant (XDR) *A. baumannii* strains.

The extraction of essential oils (EOs) was carried out by steam distillation method. The antibacterial activity of the EOs alone and in combination was evaluated with agar diffusion technique. The results revealed moderate antibacterial activity for both essential oils. However, the exploration of the combined effects of these essential oils with antibiotics showed very interesting synergistic associations, especially with ciprofloxacin and amikacin. This demonstrates the value of using these oils to develop antibiotic adjuvants with intracellular targets, to improve their efficacy and thus combat resistant bacteria.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, carbapenemases, Essential oil, *Salvia jordanii* J.B Walker, *Salvia officinalis* L., synergy, XDR.

## *Liste des abréviations*

**AAC** : aminoglycosides acétyl-transférases.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AK** : Amikacine.

**AME** : aminoglycoside.

**AmpC** : céphalosporinase.

**ANT** : aminoglycosides nucléotidyl-tranférases.

**APH** : aminoglycosides phospho-transférases.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ARNm** : Acide ribonucléique messenger.

**ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique.

**ATCC** : American Type Culture Collection.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**BAP** : protéine associée au biofilm.

**BLSE** : Bêta-lactamases à spectre étendu.

**$\beta$ -lactamases** : Bêta-lactamases.

**CAZ** : Céftazidime.

**CHE** : Composés d'huiles essentielles.

**CIP** : Ciprofloxacine.

**CLSI** : Clinical & Laboratory Standards Institute.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CRAB** : *Acinetobacter baumannii* résistant aux carbapenèmès.

**CTX** : Céfotaxime.

**DHA** : AmpC de type plasmidique.

**DO** : Doxycycline.

**EV** : Entrainement à la vapeur.

**GEN** : Gentamicine.

**HD** : Hydrodistillation.

**HEs** : Huiles essentielles

**HESJ** : huile essentielle de *Salvia jordannii* J.B Walker

**HESO** : huile essentielle de *Salvia officinalis*

**IMP** : Imipénème.

**ISAbal:ISAbal** : Séquence d'insertion Abal.

**KPC** : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémases

**LEV** : Lévofloxacine.

**MBLs** : Métallo-bêta-lactamases.

**mCIM** : Méthode d'inactivation de carbapénèmes modifiée.

**MDR** : Multi-drug resistance (multirésistance aux médicaments).

**NDM** : New delhi Métallo-bêta-lactamases.

**NET** : Nétilmicine.

**OMPs** : Protéines de la membrane externe.

**OXA** : Oxacillinases.

**PDR** : Bactéries panrésistantes.

**PLC** : Phospholipase C.

**PLD** : Phospholipase D.

**PLP** : Protéines liant à la pénicilline.

**PIP** : Pipéracilline.

**RND** : Résistance-nodulation-division.

**RPP** : Protéines de protection ribosomique.

*S.aureus*: *Staphylococcus aureus*.

*S.jordanii J.B Walker*: *Salvia jordanii J.B Walker*

*S.jordanii*: *Salvia jordanii J.B Walker*

*S.officinalis*: *Salvia officinalis.L*

**sCIM**: Méthode simplifiée de l'inactivation des carbapénèmes.

**SFE** : Extraction par fluide supercritique.

**SHV** : Sulfhydryl Variable.

**SXT** : Cotrimoxazole.

**TCC** : Ticarcilline + Acide clavulanique.

**TIC** : Ticarcilline.

**TOB** : Tobramycine.

**UAE** : Extraction assistée par ultrasons.

**UFC** : unité formant colonie.

**VEB**: Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase.

**XDR** : Extensively drug-resistance (bactéries extrêmement résistantes).

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Gram variable d' <i>A.baumannii</i> .....	5
<b>Figure 02</b> : Aspect des colonies d' <i>A.baumannii</i> sur gélose au sang.....	5
<b>Figure 03</b> : Culture d' <i>A.baumannii</i> sur gélose trypticase soja. (A) colonies muqueuses. (B) Colonies rugueuses.....	6
<b>Figure 04</b> : Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	11
<b>Figure 05</b> : Structure chimique de certains terpénoides.....	19
<b>Figure 06</b> : La plante de <i>Salvia jordanii</i> J.B.Walker.....	24
<b>Figure 07</b> : La plante de <i>Salvia officinalis</i> .L.....	25
<b>Figure 08</b> : Mécanismes contribuant à la synergie entre les HEs et les antibiotiques.....	28
<b>Figure 09</b> : Matériel végétal.....	28
<b>Figure 10</b> : Appareillage de l'extraction des huiles essentielles.....	29
<b>Figure 11</b> : Vitek 2 compact.....	31
<b>Figure 12</b> : Disque d'imipénème chargé de colonies d' <i>A.baumannii</i> .....	33
<b>Figure 13</b> : Schéma du placement des disques dans l'aromatogramme.....	34
<b>Figure 14</b> : L'aspect des deux huiles essentielles : A : HE de <i>S. jordanii</i> . B : HE de <i>S. officinalis</i> .....	36
<b>Figure 15</b> : Aspect des colonies isolées d' <i>A. baumannii</i> ; A : sur gélose au sang frais ; B : sur le milieu Hektoen.....	36
<b>Figure 16</b> : Observation microscopique après coloration de Gram d' <i>A. baumannii</i> .....	37
<b>Figure 17</b> : Résultats du test sCIM des souches d' <i>A. baumannii</i> .....	38
<b>Figure 18</b> : CMI sur microplaque de l'HESO à gauche et de l'HESJ à droite.....	39

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Les caractéristiques biochimiques d' <i>A. baumannii</i> .....	6
<b>Tableau 02</b> : Le principe des méthodes d'extraction conventionnelles.....	21
<b>Tableau 03</b> : Origine et date de prélèvements des souches d' <i>A. baumannii</i> .....	30
<b>Tableau 04</b> : Profil de résistance des souches d' <i>A. baumannii</i> aux antibiotiques testés .....	38
<b>Tableau 05</b> : DZI et CMI de l'HE de <i>Salvia jordannii</i> J.B Walker et de <i>Salvia officinalis</i> ...	40
<b>Tableau 06</b> : Effet de combinaison des huiles essentielles de <i>S. jordanii</i> (HESJ) et <i>S.officinalis</i> (HESO) avec l'antibiotique Amikacine(AK) sur différentes souches d' <i>A.baumannii</i> .....	41
<b>Tableau 07</b> : Effet de combinaison des huiles essentielles de <i>S. jordanii</i> et <i>S. officinalis</i> avec l'antibiotique Ceftazidime (CAZ) sur différentes souches d' <i>A. baumannii</i> .....	42
<b>Tableau 08</b> : Effet de combinaison des huiles essentielles de <i>S. jordanii</i> (HESJ) et <i>S.officinalis</i> (HESO) avec l'antibiotique Imipenème (IMP) sur différentes souches d' <i>A.baumannii</i> .....	43
<b>Tableau 09</b> : Effet de combinaison des huiles essentielles de <i>S. jordanii</i> (HESJ) et <i>S.officinalis</i> (HESO) avec l'antibiotique ciprofloxacine (CIP) sur différentes souches d' <i>A.baumannii</i> .....	43

# *Introduction*

Au cours des années 2000, le monde a assisté à une recrudescence préoccupante d'infections nosocomiales provoquées par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Acinetobacter baumannii*, qui n'était auparavant qu'un pathogène respiratoire sporadique, est devenu l'un des principaux agents responsables de ces infections **(Doi et al., 2015)**. En effet, cet organisme est responsable de près de 10% des infections nosocomiales, telles que, les pneumonies acquises sous ventilation mécanique, les méningites, les bactériémies, ainsi que, les infections de plaies et des voies urinaires. Elles touchent, principalement, les patients immunodéprimés, ce qui conduit à des prolongements de leur durée d'hospitalisation, voir leur mort **(Adams et al., 2008 ; Kumar et al., 2021)**

En 2018, l'Organisation Mondiale de la Santé a classé *A.baumannii* résistant aux carbapénèmes (CRAB) comme pathogène de priorité 1 en matière de recherche et de développement d'antibiotiques **(Kyriakidis et al., 2021)**, en raison de sa résistance naturelle à de nombreuses familles d'antibiotiques et sa capacité accrue à acquérir de nouvelles résistances, ce qui limite les options thérapeutiques. Ainsi, dans les services de réanimation, pas moins de 30% des souches cliniques d'*A.baumannii* présentent une résistance à au moins, trois classes d'antibiotiques différentes **(Adams et al., 2008)**. Ces infections deviennent encore plus sévères, lorsque les souches sont résistantes aux carbapénèmes. En effet, ces dernières causent des taux de mortalité bruts allant jusqu'à 76% **(Doi et al., 2015)**. De plus, ce phénomène a touché même les antibiotiques de dernier ressort tels que, la tigécycline et la colistine. Par ailleurs, ce germe se caractérise par une grande tolérance à la dessiccation et la capacité à former des biofilms, lui permettant de survivre longtemps sur les surfaces biotiques et abiotiques. Ces propriétés font ainsi, d'*A.baumannii* un pathogène très bien adapté à l'écosystème hospitalier **(Doi et al., 2015 ; Roy et al., 2022)**.

Cette perte d'efficacité des antibiotiques contre ce pathogène opportuniste, souligne l'urgence de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques avant que ces infections ne deviennent réellement indéfendables **(Whiteway et al., 2022 ; Ren & Palmer, 2023)**. Parmi ces stratégies, l'utilisation des huiles essentielles en tant qu'antimicrobiens, est l'une des alternatives pour combattre les infections dues à ce germe. Elles sont un mélange de composés volatils de faible poids moléculaire, synthétisées dans différents organes végétaux (les fleurs, les feuilles, les graines...etc. En outre, elles sont composées principalement de monoterpènes de sesquiterpènes et parfois de diterpènes. Elles contiennent également d'autres molécules comme des acides, des alcools, des aldéhydes... etc **(Nazzaro et al., 2013)**.

A cet effet, les propriétés des huiles essentielles ont fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques visant à évaluer leur efficacité contre divers micro-organismes pathogènes, ainsi que leurs vertus anti-inflammatoires et antioxydantes (**Ksouri et al., 2020**) d'ailleurs plusieurs études ont démontré que les huiles essentielles d'origan, de thym et de cannelle possèdent des propriétés antioxydantes attribuables à la présence de composés phénoliques tels que le carvacrol et le thymol (**Lagha et al., 2019**).

D'autres travaux visent aussi à explorer les effets synergiques résultant de l'association des huiles essentielles et des antibiotiques dans la lutte contre l'antibiorésistance. Une étude réalisée par Knezevic et al. a démontré l'existence d'effets synergiques entre l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* avec les antibiotiques classiques (ciprofloxacine, gentamicine et polymyxine B) contre les souches d'*A. baumannii* multirésistantes. (**Knezevic et al., 2015**). Dans un autre travail réalisé par Chouhan et al. Le thymol et le carvacrol, deux composés phénoliques majeurs des huiles essentielles, ont démontré une synergie avec la pénicilline dans la lutte contre *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. De plus, l'eugénol, un autre composé clé, a révélé un effet synergique avec l'ampicilline contre *Streptococcus criceti* et *Streptococcus gordonii*, ainsi qu'avec la gentamicine contre *Streptococcus sanguinis* et *Porphyromonas. Gingivalis* (**Chouhan et al., 2017**). Cette thérapie combinatoire fait état de résultats remarquables. En effet, l'utilisation conjointe des huiles essentielles et des antibiotiques permet de réduire considérablement les doses d'antibiotiques nécessaires pour éradiquer complètement les infections causées par des souches multirésistantes (**Soni & Soni, 2014**).

Dans ce contexte, notre étude a pour objectif, l'évaluation de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles, à savoir celle de *Salvia jordanii* J.B.Walker et celle de *Salvia officinalis* L. seules et en combinaison avec des antibiotiques, contre des souches cliniques d'*A. baumannii* extrêmement résistantes aux antibiotiques.

# **Partie bibliographique**

# *Chapitre 01*

## *Acinetobacter baumannii et résistance aux antibiotiques*

## I. Généralités sur *Acinetobacter baumannii*

### I.1. Historique et taxonomie

La découverte du genre *Acinetobacter* remonte à 1911, lorsque Beijerinck a identifié un pathogène nommé *Micrococcus calcoaceticus* dans le sol sur un milieu minéral d'acétate de calcium (L. Dijkshoorn, 2008). Les groupes d'*Acinetobacter* étaient auparavant, insuffisamment, définis et confusément classés dans différents genres tels que *Achromobacter anitratus*, *Moraxella lwoffii* et *Neisseria winogradskyi* (Munoz-Price & Weinstein, 2008 ; Jung & Park, 2015). C'est en 1954, que Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos* : « incapable de bouger ») pour regrouper une collection hétérogène de bactéries immobiles, à coloration de Gram négative et à réaction d'oxydase positive ou négative. Trois ans plus tard, Brisou a identifié une espèce typique nommée *Acinetobacter anitratum* (Almasaudi, 2016).

Par la suite en 1974, le Manuel de Bactériologie de Bergy a placé ces bactéries dans la famille des *Neisseriaceae* avec seulement *Acinetobacter calcoaceticus* comme espèce et les deux sous-espèces *A. anitratum* et *A. lwoffii*, sur la base de l'observation que *Acinetobacter* a le potentiel d'acidifier le glucose (Almasaudi, 2016). Une avancée majeure dans l'histoire du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986, grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimont qui sont parvenus à distinguer 19 groupes génomiques, certaines étant clairement dénommées comme *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* et *A. lwoffii* (Enterobacteries, 1991).

Actuellement le genre *Acinetobacter* comprend 74 espèces répertoriées, très proches phénotypiquement : *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii* et *A. lacticae* (également appelée *A. dijkshoorniae*) impliquées dans des infections cliniques, ainsi que l'espèce environnementale *A. calcoaceticus*, qui sont regroupées sous le terme de "Acinetobacterbaumannii-calcoaceticus complexe". Ce dernier rassemble donc, les espèces d'*Acinetobacter* les plus préoccupantes sur le plan médical, dont l'identification précise, nécessite souvent, des tests moléculaires (Howard *et al.*, 2012 ; Castanheira *et al.*, 2023).

### I.2. Classification

L'espèce *Acinetobacter baumannii* fait partie de la famille des *Moraxellaceae* appartenant à l'embranchement des *Proteobacteria* (Whiteway *et al.*, 2022).

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Moraxellaceae*

Genre : *Acinetobacter*

Espèce : *Acinetobacter baumannii*

### I.3. Habitat

*Acinetobacter* est un groupe hétérogène d'organismes qui sont généralement des saprophytes libres que l'on trouve presque partout, couramment distribués dans l'environnement (sol, eau, eaux usées, homme, aliments et animaux) (Kurcik-Trajkovska, 2009). Dans le milieu hospitalier, *A. baumannii* est fréquemment isolé à partir d'équipements médicaux réutilisables comme les tubulures de ventilateurs, les dispositifs de surveillance de la pression artérielle, les humidificateurs, les lavabos...etc. Ils ont également été isolés de la peau du personnel de santé (Wendt *et al.*, 1997 ; Almasaudi, 2016).

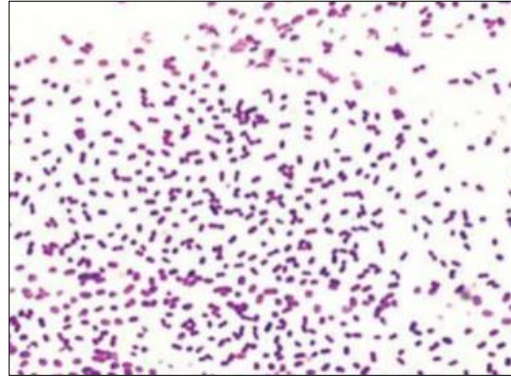
Malgré son association avec les infections cutanées, *A. baumannii* est rarement, trouvé comme faisant partie de la microflore normale de la peau, et seulement 3% (au maximum) de la population sont colonisés par la bactérie (Howard *et al.*, 2012).

### I.4. Caractères bactériologiques

#### I.4.1. Caractères morphologiques

*A. baumannii* est un coccobacille à Gram négatif, parfois, diagnostiquée comme Gram positif en raison, de sa résistance à l'alcool lors de la coloration de Gram, montrée dans la figure01. Il est immobile, mais, peut se déplacer grâce à des fimbriaes polaires, avec un certain type de motilité; "tressaillement"(Ahmad & Mohammad, 2020). Il est non

sporulant, associés en paires ou en courtes chainettes. 30% des souches de cette espèce possèdent une capsule, que l'on peut identifier par coloration de Gram par un halo clair qui entoure la bactérie (**Hidri, 2012**).

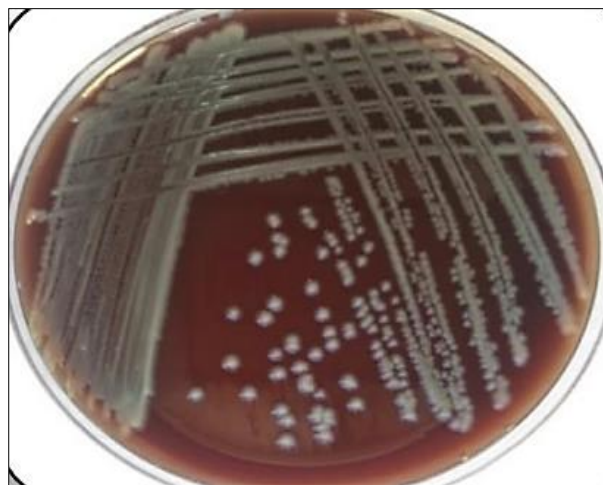


**Figure01** : Gram bipolaire d'*A. baumannii* (**Hidri, 2012**)

### I.4.2. Caractères cultureux

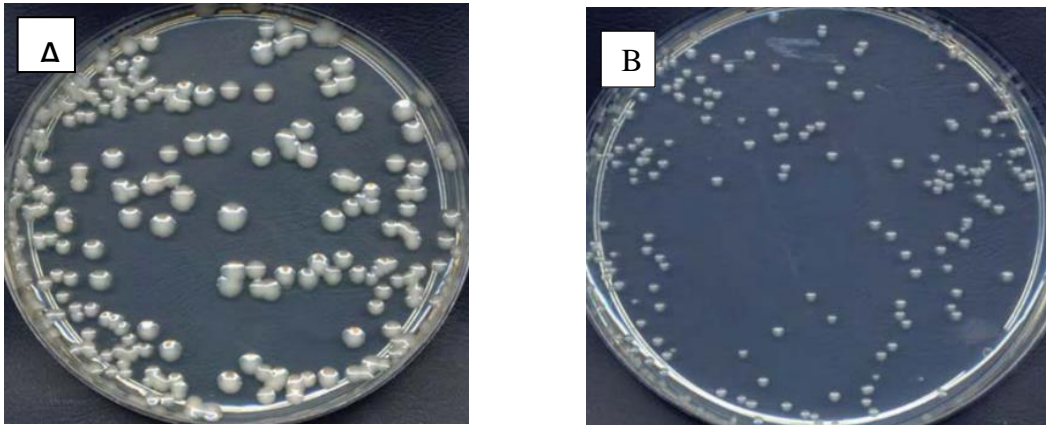
*A. baumannii* est une bactérie aérobic stricte qui se cultive facilement sur les milieux de culture usuels (la gélose nutritive, la gélose au sang frais et cuit ...). Elle forme des colonies arrondies de 2 à 3 mm de diamètre, pendant 18-24h (**Filimon & Tarași, 2004**), ayant un aspect lisse, parfois mucoïde, à contours régulier et de couleur blanche grisâtre, comme il est montré dans la figure 02 (**Peleg et al., 2008**). Les colonies des souches capsulées se distinguent par un aspect muqueux, de celles des souches non capsulées qui sont plus petites et d'un aspect rugueux. La figure 03 illustre cette différence d'aspect (**Hidri, 2012**).

L'espèce d'*A. baumannii* est capable de croître à 44 °C, à la différence des autres espèces, ce qui est un trait particulièrement utile pour les identifier (**Ahmad & Mohammad, 2020**).



**Figure 02** : Aspect des colonies d'*A. baumannii* sur gélose au sang

(**Ahmad & Mohammad, 2020**)



**Figure 03** : Culture d'*A. baumannii* sur gélose trypticase soja. (A) colonies muqueuses. (B) colonies rugueuses (Hidri, 2012)

#### I.4.3. Caractères biochimiques

Les différents tests biochimiques décrivant le profil métabolique d'*A. baumannii*, sont récapitulés dans le tableau 01.

**Tableau 01** : Caractéristiques biochimiques d'*A. baumannii* (Hidri, 2012 ; Ahmad & Mohammad, 2020)

Test		Résultat
Mobilité		Immobile
Catalase		+
Oxydase		-
Utilisation des sucres :	Glucose	+
	Xylose	+
	Mannitol	-
	Sucrose	-
	Galactose	+
	Manose	+
	Rhamnose	+
	Lactose	-
	Maltose	Variable
	Hydrolyse d'esculine	
Uréase		Variable
Indole		-
Rouge de méthyle		-
Citrate		+
Voges-Proskauer		-

### **I.4.4. Caractères génotypiques**

Le génome de base de la population nosocomiale actuelle d'*A. baumannii*, comprend environ 2200 séquences d'ADN codantes, et possède une teneur en G+C (guanine + cytosine) de 39 à 47,5 %. La majorité de ces gènes sont impliqués dans les processus métaboliques et cellulaires généraux, tandis qu'une partie importante reste dédiée à des protéines hypothétiques dont la fonction n'est pas déterminée (**Imperi et al., 2011; Castanheira et al., 2023**). Ce génome est composé d'un chromosome et des plasmides (**Salgado-Camargo et al., 2020**), dont la taille varie de 2 à 190 kb (**Castanheira et al., 2023a**), et portent, principalement, des gènes de résistance aux antibiotiques (**Wibberg et al., 2018**).

### **I.5. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène**

La pathogenèse est un terme qualitatif qui indique la capacité d'un microorganisme à établir l'infection chez un hôte. D'autre part, la virulence est un terme quantitatif qui représente le degré de dommages causés par un agent pathogène. Parmi les facteurs de virulence à différents stades de la pathogenèse que possède *A. baumannii*, on cite :

#### **I.5.1. Les protéines de la membrane externe (OMPs)**

Les OMPs tel que l'OmpA est un facteur de virulence clé de cette bactérie, et il a été associé à plusieurs mécanismes pathogènes, notamment, l'induction de l'apoptose dans les cellules eucaryotes, la stimulation de l'inflammation, et l'induction de l'autophagie bactérienne (**Jian-Xia et al., 2023**).

#### **I.5.2. Les capsules bactériennes**

Les capsules bactériennes, agissent comme une barrière protectrice entre les bactéries et leur environnement externe, facilitant ainsi, la réponse au stress et assurant la survie bactérienne à long terme (**Jian-Xia et al., 2023**).

#### **I.5.3. Les pili**

Les pili jouent un rôle crucial dans la virulence et la pathogenèse d'*A. baumannii*, facilitant son adhérence aux surfaces biotiques ou abiotiques et sa formation de biofilm, ce qui contribue à son pouvoir pathogène et à la capacité d'infecter l'hôte humain (**Karampatakis et al., 2024**).

#### **I.5.4. Les phospholipases**

La phospholipase C (PLC) et la phospholipase D (PLD), sont des enzymes qui jouent un rôle important dans la toxicité d'*A. baumannii*. La PLC dégrade, principalement la membrane des cellules hôtes ou les phospholipides de la barrière muqueuse. Tandis que, La PLD est une

protéine sécrétoire catalyse la phosphatidylcholine en phospholipides, permettant ainsi aux bactéries de pénétrer, profondément, dans le tissu hôte (Riham *et al.*, 2023 ; Jian-Xia *et al.*, 2023).

### I.5.5. Formation de biofilm

Dans des conditions stressantes *A. baumannii* peut utiliser des protéines associées au biofilm (Bap) favorisant la colonisation cellulaire et la survie bactérienne sur des surfaces vivantes ou inertes grâce à l'adhérence cellulaire (Riham *et al.*, 2023).

### I.5.6. Les systèmes de sécrétion

Il existe cinq systèmes de sécrétion qui ont été découverts chez *A. baumannii* (T1SS, T2SS, T4SS, T5SS, et T6SS). Ils sont responsables de la production de protéines qui accomplissent diverses fonctions cellulaires, les interactions avec les cellules hôtes, ainsi que la régulation de la virulence (Yao *et al.*, 2023).

### I.5.7. L'acquisition du fer :

*A. baumannii* entreprend diverses stratégies d'acquisition de fer comme les sidérophores, les vésicules membranaires externes et les molécules d'hème des érythrocytes lysés. Les sidérophores sont de petites molécules chélateurs spécifiques au fer. À ce jour dix sidérophores distincts sont élaborés par *A. baumannii* dont l'acénétobactine est le seul sidérophore associé à sa virulence (Yao *et al.*, 2023).

## II. La résistance aux antibiotiques

Selon la définition microbiologique, une souche est dite résistante lorsqu'elle croit en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée comparativement à d'autres souches de la même espèce (Muylaert & Mainil, 2012). Autrement dit, sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carle, 2009).

A l'échelle clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place (Muylaert & Mainil, 2012), ce qui se traduit par, un échec thérapeutique (Guillot, 1989).

En génétique, la résistance implique l'expression de gènes de résistance présents chez la bactérie (Guillot, 1989).

### II.1. Type de résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles, permettant de la classer en deux : naturelle et acquise. La première fait partie du patrimoine génétique initial de la bactérie, alors que, la seconde est acquise en réponse aux conditions environnementales auxquelles elle est exposée (**Bouyahya et al., 2017**).

#### II.1.1. Résistance naturelle

Une résistance naturelle (intrinsèque) se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antibiotiques (**Muylaert & Mainil, 2012**). Cette résistance est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement, pas transférable d'une bactérie à l'autre par transmission horizontale (**Carle, 2009**).

#### II.1.2. Résistance acquise

La résistance acquise est une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles (**Carle, 2009 ; Muylaert & Mainil, 2012**). Elle est le résultat de deux phénomènes majeurs soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger) (**Muylaert & Mainil, 2012**).

- **Mutation chromosomique spontanée**

Les mutations chromosomiques spontanées constituent un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement, qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action (**Carle, 2009**). Elles peuvent se produire spontanément, lors de la réplication de l'ADN (en absence système de réparation) ce qui donne lieu à des protéines biochimiquement, modifiées (**Bouyahya et al., 2017**). Une fois qu'un mutant résistant apparaisse, l'antibiotique élimine le reste de la population sensible et le mutant résistant prédominant (**Munita & Arias, 2016**). Lorsque le taux de mutation est très élevé, on parle d'une l'hyper-mutation (**Bouyahya et al., 2017**).

- **Les transferts horizontaux**

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique. Ce phénomène peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Le transfert est généralement réalisé grâce à trois phénomènes essentiels (Carle, 2009) :

- La transduction : c'est un mécanisme de transfert de gènes, par le biais d'un virus appelé bactériophage. Ce mécanisme permet le transfert d'information génétique entre bactéries phylogénétiquement liées ;
- La transformation : La transformation permet l'acquisition et l'incorporation d'ADN libre dans l'environnement nu qui dérive d'une bactérie morte ;
- La conjugaison : c'est un processus qui implique transfert direct de l'ADN d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice par un mécanisme complexe nécessitant un contact cellulaire étroit. Elle permet le transfert de plasmides et d'éléments transposables (Muylaert & Mainil, 2012).

### II.2. Définition des termes MDR, XDR et PDR

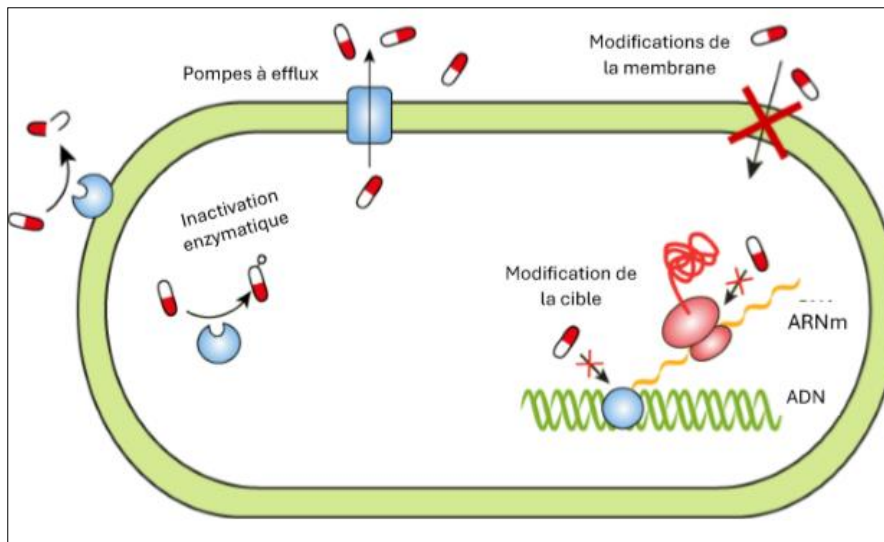
Les bactéries multirésistantes (MDR) (multidrug-resistant) ont été définies comme des bactéries qui résistent à au moins, un antimicrobien dans trois classes d'antimicrobiens ou plus, tandis que, les bactéries extrêmement résistantes (extensivedrug-resistant) (XDR) ont été définies comme non sensible à au moins, un agent antimicrobien dans toutes les classes d'antimicrobiens, sauf deux ou moins (Karruli *et al.*, 2022). Enfin, les bactéries panrésistantes (pandrug-resistant)(PDR) ont été définies comme non sensible à tous les agents de toutes les classes d'antimicrobiens (Sweeney *et al.*, 2018).

### II.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Sur le plan biochimique les bactéries ont développé quatre grands types de mécanismes leurs permettant d'échapper à l'action des antibiotiques, qui sont représentés dans la figure 04 à savoir (Bouyahya *et al.*, 2017; Camilli, 2023) :

- L'inactivation enzymatique : les bactéries synthétisent des enzymes qui hydrolysent ou modifient la structure des antibiotiques résultant en une inhibition de l'action de ce dernier.
- Modification de la cible de l'antibiotique : la bactérie modifie la structure de ses protéines diminuant ainsi leur affinité à des antibiotiques spécifiques.

- La perméabilité des protéines : la bactérie modifie sa structure membranaire de telle sorte à empêcher ou diminuer l'infiltration de l'antibiotique.
- L'efflux des pompes : les pompes à efflux empêchent l'entrée de l'antibiotique dans la cellule en l'expulsant vers le milieu extracellulaire.



**Figure 04** : les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Camilli, 2023)

### II.4. La résistance chez *A. baumannii*

#### II.4.1. Le phénotype sauvage d'*A. baumannii* (résistance naturelle)

À ses débuts dans les années 70 *A. baumannii* était sensible à la plupart des antibiotiques disponibles, à l'exception de la pénicilline. Cependant, cette bactérie possède naturellement, plusieurs mécanismes de résistance. Elle produit une bêta-lactamase de type céphalosporinase conférant une résistance aux aminopénicillines, céfalotine et céfoxitine (Decré, 2012 ; Castanheira *et al.*, 2023).

*A. baumannii* est également doté d'une oxacillinase chromosomique naturelle OXA-51 appartenant à la classe D. Sa membrane est naturellement imperméable, associée à une pompe à efflux RND active contre de nombreux antibiotiques. Ainsi, cette espèce présente une résistance suscitée à l'ertapénème, la fosfomycine, le triméthoprim, l'acide pipémidique, la norfloxacine, les furanes et une faible sensibilité à l'aztréonam. Ces multiples mécanismes expliquent l'émergence rapide de souches multirésistantes d'*A. baumannii* (Poirel *et al.*, 2011 ; Decré, 2012).

### II.4.2. La résistance acquise chez *A. baumannii*

#### II.4.2.1. La Résistance aux bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus prescrits contre les infections bactériennes. Elles regroupent les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de bêta-lactamases.

Leur mode d'action repose sur leur similarité structurale avec un composant clé de la paroi bactérienne, le peptidoglycane. Plus précisément, les bêta-lactamines inhibent les enzymes PLPs (protéines de liaison à la pénicilline) qui catalysent les dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane. En se liant de manière irréversible au site actif des PLPs, les bêta-lactamines bloquent cette synthèse. En bloquant la synthèse de ce composant, ils compromettent l'intégrité structurale de la bactérie, provoquant sa destruction (**Kyriakidis *et al.*, 2021**).

##### ➤ Mécanisme enzymatique

La production de  $\beta$ -lactamases constitue le principal mécanisme de résistance d'*A. baumannii* face aux bêta-lactamines. Ces enzymes ont la capacité de cliver le noyau bêta-lactame rendant ainsi les antibiotiques bêta-lactamines inactifs et incapables de se lier aux PBPs et d'inhiber la synthèse du peptidoglycane (**Shi *et al.*, 2024**). Dans la classification d'Ambler, les  $\beta$ -lactamases sont divisées en quatre classes (A, B, C et D) selon les séquences des acides aminés qui composent l'enzyme (**Kyriakidis *et al.*, 2021**).

- **Les enzymes de la classe A**

La classe A regroupe les pénicillinases, les céphalosporinases et les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). Ces  $\beta$ -lactamases peuvent avoir un spectre étroit, ou acquérir une activité à spectre étendu contre les antibiotiques par mutations ponctuelles. Les  $\beta$ -lactamases à spectre étroit sont actives principalement contre les pénicillines et peuvent être inhibées par l'acide clavulanique, tandis que les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) peuvent hydrolyser les céphalosporines à spectre étendu, comme la ceftazidime, la ceftriaxone, la céfotaxime, ainsi que l'aztréonam (**Kyriakidis *et al.*, 2021**). Chez *A. baumannii* différentes BLSE ont été détectées notamment TEM, SHV, PER, VEB et KPC. De plus, certaines souches productrices de la BLSE GES-22 ont développé une résistance même aux inhibiteurs classiques des BLSE comme le sulbactam, le clavulanate et le tazobactam. Les gènes codant les  $\beta$ -lactamases de

classe A peuvent être portés par le chromosome ou des plasmides, et acquis par transfert horizontal (Shi *et al.*, 2024).

- **Les enzymes de la Classe B**

Les  $\beta$ -lactamases de classe B sont également appelées métallo-bêta-lactamases (MBLs) car leur centre catalytique actif nécessite l'intervention d'ions métalliques tels que le  $Zn^{2+}$  (Shi *et al.*, 2024). Elles hydrolysent toutes les bêta-lactamines (y compris les carbapénèmes), sauf les monobactames (Kyriakidis *et al.*, 2021), et elles résistent aux inhibiteurs enzymatiques conventionnels, comme le sulbactam, le tazobactam et le clavulanate, mais, elles peuvent être inhibées par des composés chélateurs de métaux qui se lient aux ions métalliques et l'acide éthylène diamine tétra-acétique (López *et al.*, 2019).

Six groupes de métallo-bêta-lactamases (MBLs) acquises : IMP, VIM, SIM, GIM, SPM et NDM sont, aujourd'hui identifiés, parmi ceux-ci, les types IMP, VIM, SIM et NDM ont été détectés chez les espèces d'*A. baumannii* (Khalilov *et al.*, 2023). Les MBL sont codées par de l'ADN mobile (plasmides, intégrons), permettant leur transmission horizontale entre différentes bactéries par transfert génétique, tel que la conjugaison bactérienne (Shi *et al.*, 2024).

- **Les enzymes de la classe C**

Les  $\beta$ -lactamases de classe C, aussi appelées enzymes AmpC ou céphalosporinases, ciblent les céphalosporines et ne sont pas inhibées par le clavulanate, mais par la cloxacilline ou l'acide boronique (Wu *et al.*, 2023). Les AmpC sont la principale cause de résistance d'*A. baumannii* aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération qui sont produites naturellement et de manière abondante grâce aux gènes qui en sont responsables et qui font partie de son génome chromosomique. On distingue les AmpC de chromotype (ADC) et les AmpC de type plasmidique (DHA) (Shi *et al.*, 2024). L'ADC est la principale enzyme de classe C d'Ambler. La pharmacorésistance médiée par l'ADC est obtenue par la surexpression de l'ADC, et cette surexpression, elle-même, est acquise par une séquence d'insertion d'ISAbal, qui est située à proximité des gènes de résistance (Wu *et al.*, 2023).

Les infections d'*A. baumannii* produisant ces enzymes se traitent actuellement par la prescription des céphalosporines de 4<sup>ème</sup> génération, mais malheureusement, des résistances

vis-à-vis de ces antibiotiques augmentent, d'où l'intérêt urgent de trouver une solution pour les souches productrices d'AmpC (Shi *et al.*, 2024).

- **Les enzymes de la classe D**

Les bêta-lactamines de la classe D sont également appelées oxacillinasés (OXA) en raison de leur capacité à hydrolyser les oxacillines. Ces enzymes dépendent de la sérine comme les  $\beta$ -lactamasés de classe A et C. En outre, cette classe ne peut généralement pas être inhibée par l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam à l'exception de l'OXA 51 (Kyriakidis *et al.*, 2021). Elles ont une activité contre les céphalosporines et les carbapénèmes (Shi *et al.*, 2024). À ce jour, plus de 400 enzymes de type OXA codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques ont été caractérisées (Wu *et al.*, 2023). Les principales OXA synthétisées par *A. baumannii* englobent : OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA143 et OXA-235. Les gènes codant ces enzymes peuvent être situés sur le chromosome ou les plasmides (June *et al.*, 2016). Le gène OXA-51 est généralement, non transmissible par transferts horizontaux, codé par l'ADN chromosomique avec une faible activité contre les carbapénèmes. L'enzyme OXA-23 est d'origine chromosomique ou plasmidique, elle confère une résistance à plusieurs antibiotiques dont la ticarcilline, le mérépénème, l'amoxicilline et l'imipénème. En raison de la séquence d'insertion ISAbal dans la région promotrice des gènes OXA-51 et OXA-23, il y a surproduction des enzymes correspondantes, ce qui confère à *A. baumannii*, une résistance de haut niveau aux céphalosporines de troisième et quatrième génération.

La résistance aux carbapénèmes est principalement médiée par les types B et D. Les carbapénèmes de type OXA les plus courants comprennent (Kyriakidis *et al.*, 2021).

➤ **Mécanismes non enzymatiques**

- **Les protéines de la membrane externe (OMPs)**

Les protéines de la membrane externe (OMPs) sont des porines monomériques ou trimériques permettant la diffusion de petites molécules dans et hors de l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif.

La membrane externe d'*A. baumannii* contient plusieurs OMPs, notamment OmpA, CarO, les OMPs de type OprD, Omp 33-36 kDa, AbuO, TolB, DcaP, Oma87/BamA, NmRmpM,

CadF et OprF. Les OMPs ont de multiples fonctions, ce qui confère une résistance bactérienne aux menaces telles que, les environnements hostiles et les antibiotiques (**Wu et al., 2023**). La protéine de membrane externe OmpA (40 kDa) à faible perméabilité est la principale porine non spécifique chez *A. baumannii*, qui a un rôle structurel, par conséquent, son absence dans les souches mutantes résulte en une instabilité membranaire et une sensibilité accrue aux antibiotiques y compris les pénicillines et les céphalosporines. On spécule qu'OmpA a un rôle d'expulser les antibiotiques hors de l'espace périplasmique (**Yahav et al., 2020**), et que les souches dont l'expression de cette protéine est élevée sont plus agressives. Une autre protéine de la membrane externe nommé CarO, et associée à la résistance aux carbapénèmes a été étudié, par **Mussi et al., (2005)** qui ont prouvé que chez les souches sensibles, cette porine sert de canal d'absorption des carbapénèmes, et qu'elle était soit absente ou structurellement, modifiée par mutations chez les souches résistantes (**Kyriakidis et al., 2021; Wang, Koirala, et al., 2022**).

- **Pompes à efflux**

Les systèmes d'efflux, constituent un système unique présent sur les membranes externes bactériennes. Lorsqu'ils sont surexprimés, ils peuvent conférer un phénotype de multirésistance aux antibiotiques, à la cellule bactérienne. En effet, ces pompes sont généralement, capables d'éliminer diverses classes d'agents antimicrobiens et d'autres substances indésirables de l'intérieur de la cellule (**Castanheira et al., 2023**). Actuellement, cinq principales familles de pompes à efflux sont connues pour être associées à la résistance bactérienne : les superfamilles ABC, SMR, RND, MATE et. La pompe AdeABC, de la superfamille des division nodulation-résistance (RND) est la plus cruciale chez *A. baumannii* ; et certains chercheurs la considère comme, son marqueur de résistance, en lui conférant une résistance aux carbapénèmes et aux céphalosporines (**Wu et al., 2023**). AdeABC est une pompe à efflux à trois composants ; le composant AdeB expulse les antibiotiques hors de la cellule, tandis qu'AdeA est une protéine de fusion membranaire et AdeC une protéine de la membrane externe. Il a également, été montré que d'autres pompes à efflux comme AdeIJK et AbeM peuvent contribuer à la résistance à l'imipénème et aux céphalosporines (**Kyriakidis et al., 2021**).

### **II.4.2.2. La résistance aux aminoglycosides**

Les aminoglycosides sont des inhibiteurs de la synthèse protéique, ils agissent en se fixant à la sous unité 30S du ribosome, tout en induisant des erreurs dans la traduction de

l'ARNm. Ces erreurs menant à la production de protéines défectueuses ce qui conduit à la mort cellulaire des bactéries (**Becker & Cooper, 2013**).

Le principal mécanisme de résistance d'*A. baumannii* aux aminoglycosides est la production d'enzyme modifiant les aminoglycosides (AME), qui sont les aminoglycosidesacétyl-transférases(AAC), les aminoglycosidesnucléotidyl-tranférases (ANT) et les aminoglycosidesphospho-transférases (APH), ayant des actions chimiques différentes. Un autre type d'enzyme est également synthétisé : les méthylases codées par le gène armA qui modifient l'ARN ribosomique 16S bactérien. Cette modification a lieu au niveau du site de liaison des aminosides sur la sous-unité ribosomique 30S (**Shi et al., 2024**) ce qui résulte en la réduction de l'accès des aminosides aux ribosomes. Cela confère à *A. baumannii* une résistance de haut niveau aux aminoglycosides majeurs tels que la gentamicine, la tobramycine, l'amikacine et la kanamycine (**Wu et al., 2023**).

Ces gènes de résistance se transfèrent horizontalement, et sont souvent associés à des éléments génétiques mobiles tels que les transposons (gène armA) et les plasmides (gène AAC).(**Poirel et al., 2011;Kyriakidis et al., 2021 ; Shi et al., 2024**).

### II.4.2.3. La résistance aux Fluoroquinolones

Les fluoroquinolones, sont des agents antibactériens qui inhibent la réplication de l'ADN bactérien, en ciblant spécifiquement, l'activité des topoisomérases de type II, notamment l'ADN gyrase et la topoisoméraseIV. Ils se lient de manière stable au complexe ADN-enzyme, empêchant le reliement des brins d'ADN après leur coupure transitoire. Les bactéries se retrouvent alors avec des cassures double-brin non réparées de leur matériel génétique, ce qui conduit à la mort cellulaire (**Kyriakidis et al., 2021**) ; (**Shi et al., 2024**).

Les souches cliniques d'*A. baumannii* ont développé une résistance acquise à ces antibiotiques (**Khalilov et al., 2023**), par le biais des mutations spontanées dans les gènes gyrA, gyrB et parC qui codent la gyrase et la topoisoméraseIV, respectivement. Les mutations dans les gènes uniques gyrA entraînent une résistance modérée, tandis que celles dans gyrA et parC entraînent une résistance élevée (**Wu et al., 2023**). En outre, la pompe d'efflux adeABC joue un rôle dans cette résistance en expulsant les fluoroquinolones hors cellule (**Poirel et al., 2011 ; Wu et al., 2023**).

La résistance plasmidique par l'acquisition du gène Qnr est, également, présente chez *A. baumannii*. Ces Qnr codent des protéines qui inhibent l'action de la gyrase par la compétition avec l'ADN pour la liaison, entraînant une diminution de la liaison de l'ADN avec la

topoisomérase et protégeant ainsi le complexe ADN-enzyme de l'action des fluoroquinolones. Les mutations ponctuelles dans le gène *qnr* rendent les bactéries sujettes à la résistance aux médicaments (Kyriakidis *et al.*, 2021 ; Shi *et al.*, 2024).

#### II.4.2.4. La résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines dont la tigécycline, un antibiotique de troisième génération, inhibe la synthèse des protéines bactériennes en se liant de manière réversible à l'ARN ribosomique 16S, empêchant les molécules d'ARNt amino-acyle de pénétrer dans le site A du ribosome ce qui inhibe l'élongation de la chaîne peptidique (Anyanwu & Nwobi, 2022 ; Shi *et al.*, 2024).

Chez *A.baumannii*, deux types de systèmes d'efflux, sont responsables de la résistance aux tétracyclines (Kyriakidis *et al.*, 2021). Le premier système identifié est la pompe AdeABC. Le second système est la pompe AdeIJK (Shi *et al.*, 2024). Plus récemment, une pompe à transmission plasmidique, Tet(Y), a été décrite. (Wang *et al.*, 2022 ; Anyanwu & Nwobi, 2022).

L'autre mécanisme est celui de la production des enzymes comme, les monooxygénases TetX, qui sont capable d'inhiber les tétracyclines par l'ajout d'un groupement hydroxyle à une position spécifique (C11a) de leur structure (Kyriakidis *et al.*, 2021 ; Shi *et al.*, 2024). Les gènes qui codent pour cette enzyme sont portés par un plasmide (Wang, Li, *et al.*, 2022).

En fin, certaines protéines de protection ribosomique (RPP) appartenant à la famille TetM/TetW/TetS, confèrent une résistance aux tétracyclines en se liant aux ribosomes de manière non covalente. Bien que peu fréquente, la résistance d'*A. baumannii* à la minocycline a été attribuée à ce mécanisme de protection ribosomique médié par le gène *tetM* codant pour une RPP (Kyriakidis *et al.*, 2021).

#### II.4.2.5. La résistance à la colistine

La colistine (polymyxine E) et la polymyxine B, sont des antibiotiques polypeptidiques cationiques qui désorganisent la membrane cellulaire externe des bactéries en se liant à la membrane anionique externe (Khalilov *et al.*, 2023). La colistine, reste parfois le seul antibiotique disponible dans le cas des infections à *A. baumannii* (Decré, 2012), par contre ces dernières années *A.baumannii* a pu développer une résistance à la colistine, par la modification du lipide A de la membrane externe par addition de groupements chargés positivement empêchant la liaison de la polymyxine chargé positivement. De plus, *A. baumannii* peut provoquer une perte de lipopolysaccharides et un remodelage de la membrane externe en mutant le gène codant pour le lipide A et entraîner des mutations ponctuelles dans les gènes *pmrA* et *pmrB* du système à deux composants *pmrAB* (Tu *et al.*, 2023).

## *Chapitre02*

# *Les huiles essentielles et leurs effets synergiques*

Face à la menace grandissante des bactéries résistantes aux antimicrobiens, un regain d'intérêt s'est manifesté ces dernières années pour explorer de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels, parmi lesquelles les huiles essentielles végétales (**Chouhan et al., 2017**). En effet, de nombreuses études ont mis en évidence l'efficacité des huiles essentielles et de leurs composés majoritaires pour limiter la prolifération de divers agents pathogènes bactériens. Les propriétés antibactériennes de ces huiles végétales sont connues depuis fort longtemps. Ces dernières années, une quantité substantielle de travaux scientifiques a confirmé leurs effets bactériostatiques et bactéricides contre des souches bactériennes pathogènes, parfois à de très faibles concentrations (**Bouyahya et al., 2017**). D'autres études ont montré que les huiles essentielles peuvent interagir de manière synergique avec les antibiotiques pour combattre les bactéries multirésistantes. Cette synergie augmente l'efficacité des traitements, réduisant ainsi l'utilisation excessive d'antibiotiques et les taux de résistance (**Aljaafari et al., 2019**).

### 1. Définition

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges complexes de composés volatils et odorants synthétisés par les plantes aromatiques comme métabolites secondaires (**Habib et al., 2021**). Elles sont secrétées par des structures végétales spécialisées notamment, les trichomes glandulaires, les poils et les cavités etc. Elles jouent un double rôle, d'une part, dans la défense de la plante, d'autre part, elles attirent les insectes pour faciliter la dissémination du pollen et des graines. Ces substances sont extraites principalement par hydrodistillation de diverses parties anatomiques végétales, telles que les feuilles, les graines, les bourgeons, les fleurs, les brindilles, l'écorce, le bois, les racines etc (**Aljaafari et al., 2019 ; Charles & Simon, 1990**).

### 2. Composition chimique des HEs

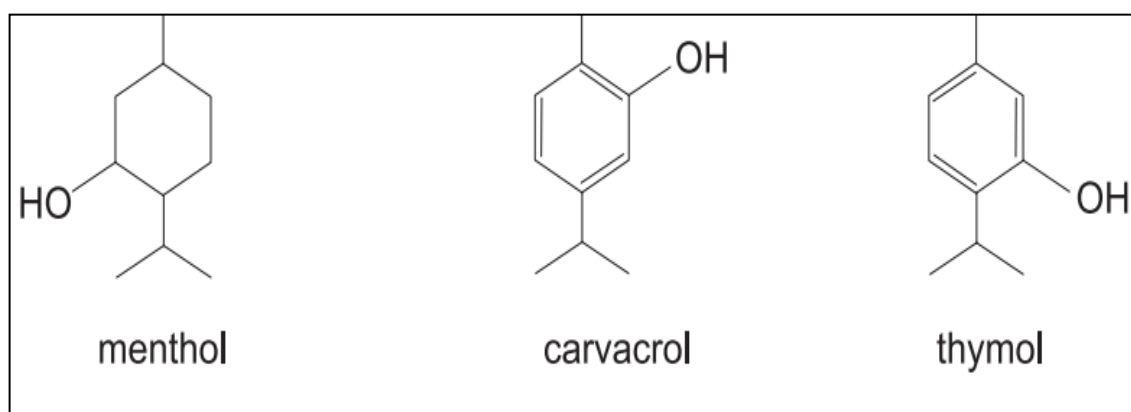
La composition chimique des huiles essentielles est influencée par une multitude de facteurs liés à la plante source, ces derniers comprennent : le stade de développement de la plante (floraison, fructification), son origine géographique, sa partie utilisée, son âge, la période et les conditions de récolte, ainsi que, la méthode employée pour l'extraction (**Burt, 2004 ; Blowman et al., 2018 ; De Almeida-Couto et al., 2022**).

Les huiles essentielles sont des mélanges contenant 20 à 60 composés à des concentrations très différentes. Elles se caractérisent par la présence de deux ou trois

composants principaux à des concentrations assez élevées (20 à 70 %), par rapport, aux autres composants présents à l'état de traces (**Bakkali & Idaomar, 2007**). Structurellement, leurs constituants chimiques peuvent être classés en quatre groupes : les terpènes, les terpénoïdes, les phénylpropanoïdes et les autres constituants (**Masyita et al., 2022**).

Les terpènes sont des hydrocarbures produits par la combinaison de plusieurs unités d'isoprène ( $C_5H_8$ ) (**Chouhan et al., 2017**). Leur diversité structurelle provient principalement du nombre d'unités d'isoprène qui les constituent. Les hémiterpènes sont formés d'une unité isoprène ( $C_5$ ), les monoterpènes ( $C_{10}$ ), les sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), les diterpènes ( $C_{20}$ ), les triterpènes ( $C_{30}$ ) et les tétraterpènes ( $C_{40}$ ). Les monoterpènes sont les composants prédominants des huiles essentielles (90%), suivis par les sesquiterpènes. Tandis que les autres classes de terpènes sont détectés en petites quantités (**Masyita et al., 2022**). Les terpènes peuvent également être acycliques, monocycliques ou bicycliques et peuvent contenir un groupe aromatique (**Blowman et al., 2018**).

Les modifications biochimiques des terpènes via des enzymes qui ajoutent des molécules d'oxygène et déplacent ou éliminent des groupes méthyles entraînent la formation de terpénoïdes (**Chouhan et al., 2017**). Ces derniers peuvent être divisés en alcools, aldéhydes, esters, éther, époxydes, cétones et phénols. Parmi les terpénoïdes, le carvacrol, le menthol et le thymol dont la structure chimique est illustrée dans la figure 01 (**Masyita et al., 2022**).



**Figure 05** : Structure chimique de certains terpénoïdes (**Burt, 2004**)

Les phénylpropanoïdes sont biosynthétisés via le métabolisme de l'acide shikimique chez les plantes. Leur structure de base est caractérisée par un noyau phénol aromatique à six atomes de carbone, généralement lié à une chaîne latérale propène de trois carbones, similaire à celle de l'acide cinnamique. Cette chaîne propène est typiquement oxygénée aux positions 3,

4 ou 5 et présente fréquemment une insaturation sous forme d'une double liaison carbone-carbone. Parmi les exemples représentatifs de phénylpropanoïdes, on peut citer des composés tels que l'anéthole, le cinnamaldéhyde, l'eugénoïl, l'isoeugenol, la myristicine, le safrol et la vanilline (**Masyita *et al.*, 2022**).

Les autres constituants des huiles essentielles contiennent également d'autres dérivés comme ceux issus d'acides aminés tels que l'alanine, l'isoleucine, la leucine, la valine et la méthionine. On y trouve plus rarement des polycétides, des lipides et certains dérivés soufrés comme l'acide jasmonique, le méthyl jasmonate, le cis-jasmone, le (Z)-3-hexénal et l'allicine (**Masyita *et al.*, 2022**). Les composés azotés ou soufrés font aussi partie des constituants caractéristiques des huiles essentielles, notamment les glucosinolates et les dérivés d'isothiocyanate (**Bakkali & Idaomar, 2007**).

### **1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

L'obtention des huiles essentielles à partir de matières végétales fait appel à diverses techniques d'extraction, regroupées en deux grandes catégories : les méthodes classiques (conventionnelles) et les méthodes innovantes (alternatives). Ces innovations ont permis d'optimiser l'efficacité des opérations en diminuant la durée et la dépense énergétique, tout en augmentant le rendement (**El Asbahani *et al.*, 2015**).

#### **3.1. Méthodes conventionnelles**

Ces procédés d'extraction, considérés comme classiques, reposent sur le principe de la distillation aqueuse par élévation de température (**De Almeida-Couto *et al.*, 2022**). Les méthodes classiques les plus répandues sont récapitulées dans le tableau 02.

**Tableau 02** : Le principe des méthodes d'extraction conventionnelles

Méthode	Principe
Hydrodistillation	L'HD constitue la méthode traditionnelle d'extraction des HEs. Son principe repose sur l'évaporation des huiles par le chauffage du matériel végétal dans un solvant, (généralement, de l'eau). La vapeur générée sera chargée de l'HE, qui est ensuite condensée, dans un condenseur, puis, récupérée par décantation ( <b>Hesham et al., 2016</b> ).
Entrainement à la vapeur	L'EV se base sur le même principe que l'HD, mais elle ne met pas en contact l'eau et la plante. La vapeur d'eau diffuse à travers le matériel végétal pour entrainer avec elle l'HE, qui sera condensée puis, décantée ( <b>De Almeida-Couto et al., 2022</b> ).
Extraction par solvant organique	L'extraction par solvant (méthode liquide-liquide), exploite les différences de solubilité des composés pour les séparer ( <b>Buckner et al., 2016</b> ). Elle consiste à faire macérer le matériel végétal dans un solvant organique, puis à concentrer l'extrait en éliminant le solvant sous vide partiel ( <b>De Almeida-Couto et al., 2022</b> ).

Les méthodes conventionnelles d'extraction, bien qu'encore prédominantes, montrent leurs limites face aux enjeux de qualité et de durabilité. Les hautes températures employées altèrent souvent les composés fragiles. De plus, pour la méthode d'extraction liquide-liquide, l'utilisation de grandes quantités de solvants organiques volatils pose des problèmes de toxicité et d'impact environnemental (**Hesham et al., 2016**).

### 3.2. Méthodes innovantes

Les méthodes innovantes, dites "vertes", visent à préserver l'intégrité des extraits tout en optimisant les ressources (**De Almeida-Couto et al., 2022**). Parmi ces méthodes on cite :

- **L'hydrodistillation assistée par micro-ondes**

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes repose sur l'utilisation du rayonnement micro-ondes pour un chauffage rapide et localisé au sein de l'échantillon (**De Almeida-Couto *et al.*, 2022**). Les principaux atouts de cette méthode sont: la réduction du temps d'opération, la diminution de la consommation de solvants, la préservation des molécules thermosensibles, la baisse de l'empreinte carbone et la réduction des dégradations thermiques et hydrolytiques (**Boukhatem *et al.*, 2019**).

Une variante particulièrement intéressante est l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes, qui combine le chauffage par micro-ondes et la distillation sèche, opérant à pression atmosphérique. Elle se base sur le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante en absence totale de solvant ajouté (**Tongnuanchan & Benjakul, 2014**)(**Boukhatem *et al.*, 2019**).

### ➤ L'extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons (UAE) est une méthode innovante qui se distingue par sa capacité à accélérer la pénétration du solvant dans la matière végétale, grâce au phénomène de cavitation. Les vibrations générées augmentent la surface d'échange matrice-solvant, optimisant ainsi le rendement d'extraction, tout en réduisant, significativement, le temps opératoire. L'utilisation de basses températures permet la préservation des composés volatils (**De Almeida-Couto *et al.*, 2022**).

### ➤ L'extraction par fluide supercritique

C'est une technique utilisant des solvants dans leur état supercritique (dont la température et la pression sont au-dessus de ses paramètres critiques)(**De Almeida-Couto *et al.*, 2022**), principalement, le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Cet état, intermédiaire entre liquide et gaz, confère au solvant des propriétés de solvation accrues, ce qui permet de réduire les temps d'extractions et d'obtenir des HEs aux profils chimiques potentiellement, différents de ceux issus de l'hydrodistillation. Ainsi, les huiles extraites par cette méthode innovante peuvent s'avérer plus concentrées en certains composés, ou contenir des molécules spécifiques absentes ou peut présentes dans les huiles issues de la distillation à la vapeur d'eau classique. (**BOUKHATEM *et al.*, 2019**).

### 2. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les extraits aromatiques naturels, représentent des propriétés antibactériennes qui démontrent des effets vis-à-vis d'un large éventail de bactéries pathogènes, Gram positif et Gram négatif (**Habib\* et al., 2021**).

Les facteurs déterminant l'activité antibactérienne des huiles essentielles sont la composition chimique (**Chouhan et al., 2017**). Parmi les nombreuses molécules présentes dans les huiles essentielles, certaines se démarquent par leurs propriétés antibactériennes avérées. On retrouve notamment les composés phénoliques tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol, mais aussi des alcools comme le linalool et des aldéhydes à l'instar du cinnamaldéhyde (**Bouyahya et al., 2017**).

Des études ont montré que les huiles essentielles ont un impact plus fort sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Cela, a été attribué à la présence d'une membrane externe avec des chaînes de polysaccharides hydrophiles qui agit comme une barrière aux HEs hydrophobes (**Kebede et al., 2021 ;Bolouri et al., 2022**). Cependant, cette membrane n'est pas totalement imperméable et les molécules hydrophobes, peuvent traverser lentement les porines qui servent de canaux transmembranaires hydrophiles (**Nazzaro et al., 2013**).

### 3. Mode d'action des huiles essentielles

Les mécanismes d'action antimicrobiens des huiles essentielles peuvent varier en fonction du type d'HE considéré, ainsi que, la souche microbienne cible. Bien que les propriétés antibactériennes des huiles essentielles soient avérées, leur site cible et le mode d'action précis de la plupart des composants demeurent encore peu clair. Cependant, divers mécanismes d'action ont été proposés, comme: la dégradation de la paroi cellulaire bactérienne, la modification des protéines de la membrane cytoplasmique, l'altération de la perméabilité membranaire, l'inactivation des enzymes extracellulaires, la réduction de l'ATP intracellulaire, la fuite du contenu cellulaire, la coagulation du cytoplasme, et l'interruption du flux d'électrons et du transport actif (**Radaelli et al., 2016**).

La composition multimoléculaire de l'huile essentielle complique la compréhension des modes d'action, chaque molécule pouvant potentiellement cibler et perturber des processus cellulaires distincts chez les bactéries (**Bouyahya et al., 2017**). Par conséquent, on considère

généralement, que le pouvoir antimicrobien d'une huile essentielle résulte d'un effet synergique entre tous les constituants contenus (Radaelli *et al.*, 2016).

#### 4. Les huiles essentielles étudiées

##### 6.1. Huile essentielle de *Salvia jordanii* J.B. Walker

###### 6.1.1. Classification et taxonomie

*Salvia jordanii* J.B. Walker, anciennement connue sous le nom de *Rosmarinus eriocalyx* Jord. & Fourr., est une plante aromatique du sous-genre *Salvia* sub g. *rosmarinus*, récemment intégré au genre *Salvia* L. de la famille des Lamiacées (*Lamiaceae*). Cette espèce est originaire de trois pays : l'Algérie, l'Espagne et le Maroc (Pieracci *et al.*, 2021).

###### 6.1.2. Description de la plante

L'espèce *Salvia jordanii*, est un arbuste aromatique persistant similaire au romarin. Elle diffère de *S. rosmarinus*, par certaines caractéristiques morphologiques telles que, des feuilles plus petites, un calice laineux et un port rampant. *S. jordanii* se caractérise par ses branches grises saillantes, ses petites feuilles linéaires coriaces de 5 à 15 mm de long sur 1 à 2 mm de large, à bords enroulés et apparence glabre, mais, abondamment poilues sur les tiges florales. Sa floraison présente un calice vert ou violacé de 3 à 7 mm, une corolle bleu pâle de 10 à 12 mm. L'arbuste peut atteindre 1,5 m de hauteur à maturité (Pieracci *et al.*, 2021).



**Figure 06:** Plante de *Salvia jordanii* J.B. Walker (Pieracci *et al.*, 2021)

###### 6.1.3. Composition chimique et activité antimicrobienne

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *S. jordanii* révèle qu'elle est principalement constituée de monoterpènes oxygénés. Les composés majoritaires sont le camphre, le 1,8-cinéol, le camphène, l' $\alpha$ -pinène. D'autres composés sont présents en plus

faibles quantités, telles que le  $\beta$ -pinène, le bornéol, le p-cymène, tandis que le reste des constituants ne sont que des traces (**Bendif et al., 2017**). Le camphre, qui la molécule responsable de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle. Ainsi que les extraits de *S. jordanii* contiennent de fortes concentrations en tanins, terpénoïdes et stéroïdes, flavonoïdes. Ces derniers possèdent une forte activité antimicrobienne contre les souches pathogènes. *S. jordanii* est plus efficace contre les bactéries à Gram positif et les champignons que contre les bactéries à Gram négatif (**Benbelaïd et al., 2016**).

### 6.2. Huile essentielle de *Salvia officinalis*. L

#### 6.2.1. Classification et taxonomie

La *Salvia officinalis* L. a de nombreux noms communs, notamment la sauge (**Behradmanesh et al., 2013**). C'est une plante vivace de la famille des Lamiacées. L'espèce *S. officinalis* trouve son origine dans les régions du Moyen-Orient et de la Méditerranée. Désormais naturalisée à l'échelle planétaire, elle s'est particulièrement bien implantée en Europe et en Amérique du Nord (**Ghorbani & Esmailizadeh, 2017**).

#### 6.2.2. Description de la plante

La sauge officinale (*S. officinalis* L.) est une plante buissonnante dont la hauteur peut atteindre 60 cm. Ses feuilles sont opposées, simples, à face inférieure veloutée blanche, tandis que leur face supérieure arbore une teinte vert grisâtre. Les tiges dressées ou rampantes, très ramifiées, sont recouvertes d'une pilosité vert foncé. Ces feuilles allongées et pétiolées ont un bord denté, une surface rugueuse et parfois des lobes basaux. Les fleurs, de couleur bleu-violet, mesurent de 2 à 4 mm de longueur et sont regroupées en faux épis composés de 5 à 10 fleurs pseudo-verticillées. Selon l'habitat et les conditions climatiques, la floraison a lieu de mars à juillet (**Jakovljević et al., 2019**).



**Figure 07** : Plante de *S. officinalis* L. (**Ghorbani & Esmailizadeh, 2017**)

### 6.2.3. Composition chimique et activités antimicrobiennes

La sauge contient plusieurs composés bioactifs appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les terpènes et les composés phénoliques. Parmi les terpènes, on distingue les monoterpènes ( $\alpha$ -thujone et  $\beta$ -thujone, le 1,8-cinéole et le camphre), les diterpènes (acide carnosique, carnosol, le rosmadial et le manool), les triterpènes (acides oléanolique et ursolique) ainsi que les sesquiterpènes ( $\alpha$ -humulène et le viridiflorol)(**Jakovljević et al., 2019**).

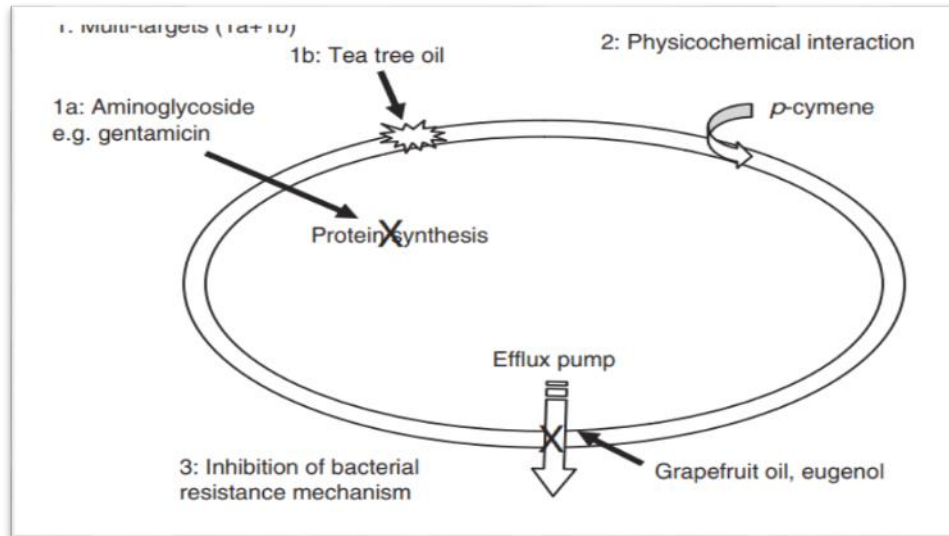
Il a été démontré que, le camphre, le thujone et le cinéole ciblent diverses bactéries. L'acide oléanolique et l'acide ursolique, quant à eux, s'attaquent même à des bactéries résistantes aux antibiotiques. Le carnosol et l'acide carnosique renforcent l'effet de certains antibiotiques contre des staphylocoques résistants (**Ghorbani & Esmaeilzadeh, 2017**).

## 7. Synergie entre les HEs et les ATB et leur mécanisme d'action

Face à l'émergence alarmante de la multi résistance chez le pathogène nosocomial *A. baumannii*, l'exploration de nouvelles stratégies thérapeutiques antimicrobiennes s'intensifient. Parmi celles-ci la combinaison des antibiotiques afin d'avoir des effets synergiques semble être un sujet d'actualité. En effet les tétracyclines de dernière génération telles que l'omadacycline et le KBP-7072 semblent pouvoir contourner les mécanismes de résistance conventionnels liés à l'efflux actif et à la protection ribosomique. L'association synergique de l'omadacycline avec le sulbactam a d'ailleurs démontré un effet bactéricide prometteur contre 80% des isolats cliniques testés. Une autre approche novatrice vise à utiliser des composés perméabilisant comme le D-LANA-14, analogue de la norspermidine, pour augmenter la perméabilité membranaire bactérienne. Combiné aux tétracyclines, le D-LANA-14 a révélé une activité synergique encourageante contre *A. baumannii*. (**Wu et al., 2023**). Dans une combinaison, l'interaction entre les antimicrobiens peut entraîner trois résultats différents, c'est-à-dire synergique, additif ou antagoniste. La synergie est obtenue lorsque les deux composés combinés produisent une activité antibactérienne supérieure à la somme de leurs activités individuelles. Un effet additif est produit quand, l'activité combinée est égale, à la somme des composés individuels. En fin, l'effet antagoniste se traduit par une diminution de l'activité antimicrobienne des deux composés en combinaison par rapport à leur activité antimicrobienne individuelle (**Aljaafari et al., 2019**).

L'utilisation des HEs, en combinaison avec des antibiotiques peut exercer une activité antimicrobienne synergique, conduisant au développement d'une nouvelle approche pour les traitements. En effet, une étude *in vitro* de Duarte et al. a montré que l'association de l'huile essentielle de coriandre avec certains antibiotiques (gentamicine, chloramphénicol, ciprofloxacine et tétracycline) présentait une efficacité synergique contre deux souches de référence d'*A. baumannii*. Cette interaction permettait d'améliorer l'effet antimicrobien de la tétracycline, la ciprofloxacine et la gentamicine, ce qui rend *A. baumannii* sensible à l'action du chloramphénicol. De même, l'examen de la combinaison d'huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* avec des antibiotiques conventionnels (gentamicine, ciprofloxacine et polymyxine B) a généralement montré un effet antibactérien synergique, y compris contre certaines souches multirésistantes (MDR) d'*A. baumannii*. Ainsi que les travaux de Boonyanugomol et al. ont mis en évidence qu'en combinant l'huile essentielle de *Zingiber cassumunar* avec différentes classes d'antibiotiques (aminoglycosides, tétracyclines, fluoroquinolones, inhibiteurs de la voie du folate), produisait un effet synergique contre des souches d'*A. baumannii* extrêmement résistantes (XDR). Cette association huile essentielle/antibiotique permettait d'augmenter significativement l'efficacité antimicrobienne (Chouhan *et al.*, 2017).

Le mécanisme d'action des HEs avec les antibiotiques est mal compris, mais en général il dépend de leur composition chimique (Aljaafari *et al.*, 2019). Il existe trois principaux mécanismes pouvant expliquer les effets synergiques observés lorsque différents composés sont combinés dans une approche pharmacologique qui sont représentées dans la figure 08. L'effet multi-cibles : dans ce cas, chaque composé cible et agit sur des sites ou processus distincts au sein de la cellule bactérienne. Les effets pharmacocinétiques/physicochimiques : certains composés peuvent améliorer les propriétés de solubilité, d'absorption, de distribution ou de biodisponibilité d'autres molécules actives au niveau du site d'action cible. Le ciblage des mécanismes de résistance bactériens : les bactéries développent diverses stratégies pour se protéger contre l'action des antimicrobiens. Certaines combinaisons peuvent cibler et inhiber spécifiquement ces mécanismes de résistance, resensibilisant ainsi les bactéries et potentialisant l'effet des autres composés (Langeveld *et al.*, 2014).



**Figure 08** : Mécanismes contribuant à la synergie entre les HEs et les antibiotiques  
(Langeveld *et al.*, 2014)

# *Partie expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

### I. Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie appliquée, Laboratoire Biochimie Analytique et Biotechnologie, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université de MOULOUD Mammeri de Tizi-Ouzou et au laboratoire de Microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou.

#### I.1. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles

Deux plantes du genre *Salvia* comprenant deux espèces distinctes : *Salvia jordanii* J.B Walker et *Salvia officinalis* L. qui sont montrées dans la figure 09, ont été récoltées dans deux régions d'Algérie différentes ; la localité de Takerboust, M'chedellah, Bouira (36°25'12.4"N 4°20'36.0"E) pour *Salvia jordanii* J.B Walker, en mois de février, et le village Chamlal, Oued Aissi, Tizi-Ouzou (36°42'18.7"N 4°05'41.9"E) pour *Salvia officinalis* L., en mois de mars. L'identification botanique a été faite par D<sup>r</sup>. Hocine Abbaci, enseignant-chercheur en Biologie végétale à l'université de Bejaïa.



**Figure 09 :** Matériel végétal. **A.** *Salvia jordanii* J.B Walker, **B.** *Salvia officinalis* L.

La méthode d'extraction des huiles que nous avons utilisée est l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (Mansango, 2005). Dans ce processus d'extraction, le matériel végétal est exposé à un flux de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite refroidies et condensées, puis séparées dans un essencier en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique (huile essentielle). Cette méthode évite tout contact direct entre l'eau et la matière végétale, ce qui apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (BOUKHATEM *et al.*, 2019; De Almeida-Couto *et al.*, 2022).

Les feuilles et les fleurs des deux plantes ont été séchées à l'abri de la lumière, à température ambiante, pendant six jours, avant d'être soumises à une extraction par entraînement à la vapeur d'eau, dont le dispositif est montré dans la figure 10. 2800g et 2000g de plantes *Salvia jordanii* J.B.Walker et *Salvia officinalis* L. respectivement, ont été utilisées. L'extraction s'est faite sous une pression de 0,4 Bar, pendant 3h. Enfin, l'huile essentielle a été récupérée dans un flacon en verre opaque fermé hermétiquement, puis conservée à +4°C, jusqu'à utilisation.

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant, le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal utilisé.

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$RD(\%) = \frac{m}{m_0} \times 100$$

Avec : Rd (%) : Rendement en huile essentielle.

m: Masse en gramme de l'huile essentielle.

m<sub>0</sub> : Masse en gramme de la matière végétale sèche.



**Figure 10** : Appareillage de l'extraction des huiles essentielles

### I.2. Isolats bactériens

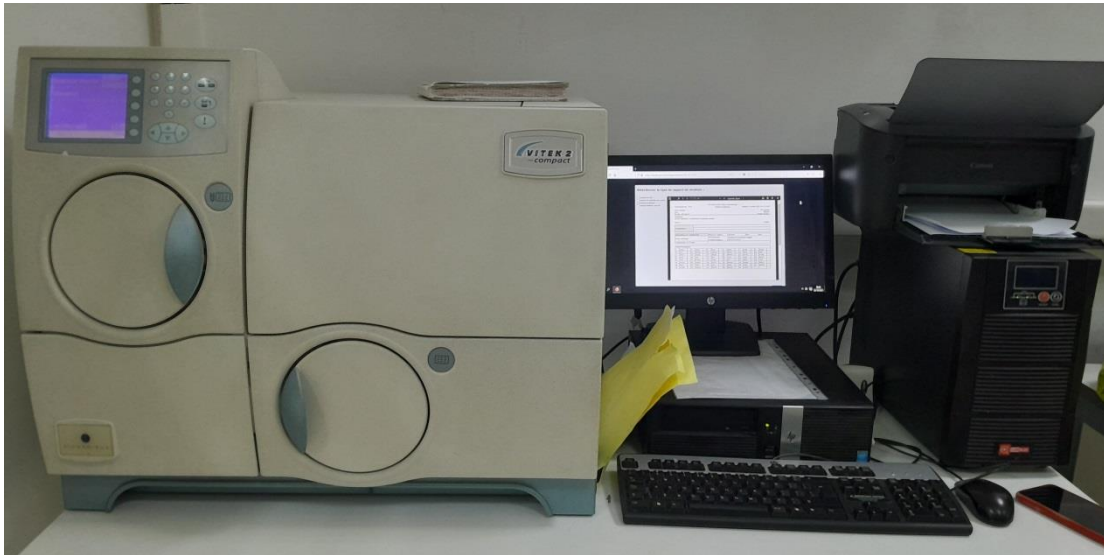
Vingt-trois souches d'*A. baumannii* ont été isolées à partir de différents prélèvements au niveau du laboratoire de Microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou, durant la période allant du 01 au 29 février 2024. Le tableau 03, représente l'origine et la date des prélèvements des souches .

Les souches ont été isolées et purifiées sur gélose Hektoen puis cultivées sur gélose au sang frais. Une coloration de Gram a été réalisée pour vérifier la pureté des souches. Ensuite, une identification biochimique a été réalisée par Vitek 2 montré dans la figure 11. Enfin, les souches ont été conservées à +4°C dans des tubes de gélose inclinée, et à -18°C dans des cryotubes de glycérol.

**Tableau 03** : Origine et date de prélèvements des souches d'*A. baumannii*

N° Identification	Sexe	Service	Type de prélèvement	Date de prélèvement
AB 1902	Femme	Urgence de chirurgie.	Pus.	04/02/2024
AB 1488	Femme	Urgence de médecine.	Liquide péricardique.	04/02/2024
AB 1995	Homme	Urgence de chirurgie.	Cathéter de voie centrale.	05/02/2024
AB 2145	Homme	ORL.	Bronchique.	06/02/2024
AB 2240	Homme	Urgence de chirurgie.	Liquide céphalo rachidien.	07/02/2024
AB 2385	Homme	Réanimation médicale.	Bronchique.	11/02/2024
AB 2229	Femme	Réanimation médicale.	Bronchique.	11/02/2024
AB 2522	Homme	Réanimation médicale.	Urine.	11/02/2024
AB 2588	Homme	Réanimation médicale.	Liquide céphalo rachidien.	12/02/2024
AB 2653	Femme	Réanimation médicale.	Urine.	14/02/2024
AB 2754	Femme	ORL.	Bronchique.	15/02/2024
AB 2723	Femme	Gynécologie.	Prélèvement vaginal.	15/02/2024
AB 2758	Femme	Réanimation médicale.	Pus.	19/02/2024
AB 2897	Femme	ORL.	Bronchique.	19/02/2024
AB 2899	Homme	ORL.	Bronchique.	19/02/2024
AB 3080	Homme	Urgence de chirurgie.	Bronchique.	20/02/2024
AB 3147	Homme	ORL.	Bronchique.	20/02/2024
AB 3138	Homme	Réanimation médicale.	Urine.	20/02/2024
AB 3137	Homme	Réanimation médicale.	Bronchique.	26/02/2024
AB 3331	Homme	Hématologie.	Crachat.	26/02/2024
AB 3329	Femme	Gynécologie.	Pus.	26/02/2024
AB 3586	Homme	Réanimation médicale.	Bronchique.	28/02/2024
AB 3321	Femme	Traumatologie.	Pus.	28/02/2024

**AB** : *Acinetobacter baumannii*



**Figure 11** : Vitek 2 compact

### **I.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques**

La détermination de la sensibilité des souches aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en gélose. C'est une méthode qui consiste à déposer des disques en papier chargés d'une concentration d'antibiotiques, sur la surface d'une gélose ensemencée par la souche test, puis de mesurer après incubation le diamètre de la zone d'inhibition formée, autour du disque. Elle donne des résultats qualitatifs permettant de classer l'organisme test dans l'une des classes suivantes : sensible, intermédiaire ou résistante. Par ailleurs, elle nous permet aussi d'avoir une appréciation quantitative des résultats, à travers, la mesure précise des diamètres des zones d'inhibition.

Dans notre étude, la sensibilité vis-à-vis de 23 souches a été testée par la méthode de diffusion sur gélose, vis-à-vis de 19 antibiotiques de différentes familles de marque BIOMAXIMA à savoir **Bêta-lactamines**: Cefotaxime (CTX 30 $\mu$ g), Ceftriaxone (CAZ 30 $\mu$ g), Ticarcilline (TIC 75 $\mu$ g), Imipénème (IMP 10 $\mu$ g), Pipéracilline (PIP 75 $\mu$ g), Ticarcilline + Acide clavulanique (TCC 75+10 $\mu$ g) . **Aminoside** : Amikacine (AK 30 $\mu$ g), Gentamicine (GEN 10 $\mu$ g), Nétilmicine (NET 30 $\mu$ g), Tobramycine (TOB 10 $\mu$ g). **Cycline** : Doxycycline (DO 30 $\mu$ g). **Sulfamide** : Cotrimoxazole (SXT 25 $\mu$ g). **Fluoroquinolone** : Ciprofloxacine (CIP 5 $\mu$ g), Lévofloxacine (LEV 5 $\mu$ g).

L'antibiogramme a été réalisé suivant les recommandations du CLSI 2021. Les boîtes de Mueller-Hinton ont été ensemencées avec des suspensions bactériennes de 10<sup>8</sup>UFC/ml, préparées à partir des cultures pures de 18 heures à 35°C. Des disques d'antibiotiques ont été

ensuite placés sur la gélose avec une distance de 3cm entre eux. Après incubation à 35°C±2 pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés, puis, interprétés selon les recommandations du CLSI 2021. En vue de s'assurer de la qualité de la technique et des antibiotiques, la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 a été utilisée.

Parmi les 23 souches étudiées, six présentant le plus grand nombre de résistances et issues de différents type de prélèvements, ont été choisies pour la suite du travail, il s'agit de : *A. baumannii* 1488, *A. baumannii* 1902, *A. baumannii* 1995, *A. baumannii* 2653, *A. baumannii* 2754 et *A. baumannii* 3331.

### I.4. Détection de la production de carbapénèmases

L'évaluation de la capacité des souches sélectionnées, à produire des carbapénèmases, a été réalisée par la méthode simplifiée de l'inactivation des carbapénèmes (sCIM). Cette dernière, se base sur le même principe que la méthode d'inactivation de carbapénèmes modifiée (mCIM), avec une amélioration des procédures expérimentales. En effet, à la différence de la (mCIM), où le disque d'imipénème est incubé dans le bouillon de la souche testée, la (sCIM) consiste à étaler, directement, l'organisme test sur la face du disque d'antibiotique, qui sera déposer sur une gélose ensemencée, par une souche sensible à l'IMP. Les souches productrices de carbapénèmases peuvent dégrader l'imipénème sur le disque, ce qui se traduit par la diminution partielle ou totale du diamètre de sa zone d'inhibition. (**Jing et al., 2018**).

Pour chaque souche, une à trois colonies, ont été raclées avec un disque d'Imipénème, comme le montre la figure 12, puis, la face du disque contenant les colonies a été déposée, sur une gélose Mueller-Hinton (MH), ensemencée avec une suspension d'*E. coli* ATCC 25922 de 10<sup>8</sup>UFC/ml. Un autre disque d'imipénème seul a été utilisé comme témoin négatif. Après incubation à 37°C pendant 18 heures, selon (**Jing et al., 2018**) les zones d'inhibition ont été mesurées et interprétées comme suit :

- Une zone d'inhibition de 6 à 20 mm ou  $\leq 22$  mm est considérée comme test positif ; production de carbapénèmases par la souche.
- Une zone d'inhibition  $\geq 26$  mm est un résultat négatif ; la souche n'est pas productrice de carbapénèmases.
- Une zone de 23 à 25 mm est considérée comme résultat indéterminé pour la souche(**Jing et al., 2018**).



**Figure 12** : Disque d'imipenème chargé de colonies d'*A. baumannii* (Jing *et al.*, 2018)

### **I.5. Activité antibactérienne des HEs seules et en association avec des antibiotiques**

Pour ce test, les deux huiles essentielles extraites ont été testées seules et en combinaison avec 4 antibiotiques : Amikacine, Ceftazidime, Imipenème et Ciprofloxacine contre les six isolats cliniques et une souche *A. baumannii* ATCC.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromagramme. Elle consiste à déposer un disque stérile de papier Whatman N°6 imbibé d'huile essentielle sur un tapis microbien et de mesurer ensuite le diamètre de la zone d'inhibition, qui traduit l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (Chebaibi *et al.*, 2016). C'est une méthode précise et fiable donnant des résultats qualitatifs et parfois semi-quantitatifs (Janssen *et al.*, 1987).

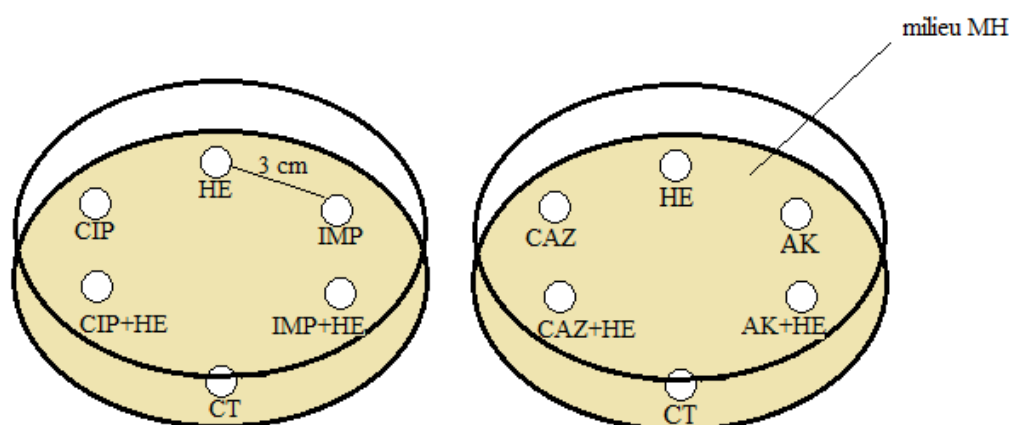
Une gélose Mueller-Hinton a été ensemencée par écouvillonnage avec une suspension bactérienne de  $10^8$  UFC/ml, les disques ont ensuite été déposés en laissant un espacement de 3 cm entre eux, puis 10  $\mu$ l d'huile essentielle pure ont été déposés sur les disques Whatman N°6 ainsi que les disques des antibiotiques sélectionnés. La colistine a été utilisée comme contrôle positif. La figure 13 schématise le placement des disques dans la boîte de Pétri. Tous les tests ont été réalisés avec trois répétitions. Les boîtes ont été mises à +4°C pendant 2h pour la pré-diffusion de l'huile dans la gélose, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et exprimés en mm et interprétés comme suit (Boonyanugomol *et al.*, 2017):

- Pour l'huile essentielle seule :

La souche est résistante si diamètre < 8 mm ; sensible : diamètre compris entre [8-14] mm ; très sensible = diamètre total de 15 à 19 mm ; extrêmement sensible = diamètre total > 20 mm

- Pour la combinaison de l'huile essentielle avec les antibiotiques :

Synergie si le diamètre du disque combiné > à la somme des diamètres de l'huile essentielle et l'antibiotique testés individuellement ; Addition si, le disque combiné = l'huile essentielle + l'antibiotique, et antagonisme si le disque combiné < de l'huile essentielle + l'antibiotique. L'augmentation du diamètre de la zone d'inhibition de l'antibiotique en présence des huiles essentielles de 5 mm ou plus était l'indicateur de l'effet synergique (**Roman et al., 2023**).



**Figure 13 :** Schéma du placement des disques dans l'aromatogramme

### I.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles

Les concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles extraites contre les souches d'*A. baumannii* ont été déterminées en utilisant la méthode de microdilution sur microplaque à 96 puits selon les recommandations du CLSI 2012. C'est une méthode à la fois qualitative et quantitative permettant de déterminer la plus faible concentration qui inhibe le développement des germes visible à l'œil nu. Elle consiste à ensemercer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation le puits ayant la plus faible concentration de l'huile essentielle montrant une inhibition de croissance, correspond à la CMI.

Des dilutions semi-logarithmiques allant de 200 à 0.39mg/ml pour l'huile essentielle de *Salvia jordanii* J.B Walker et de 225 à 0.43mg/ml pour *Salvia officinalis* L., ont été réalisées sur une microplaque, dans un bouillon Mueller-Hinton supplémenté de Tween 80 à 1% les dilutions réalisées sont schématisées dans l'annexe 2. Ensuite, 50µl d'une suspension d'*A. baumannii* à une concentration de  $10^6$  UFC/ml ont été ajoutés les puits. Dans les deux derniers puits, un test de croissance a été effectué sans l'ajout d'huile essentielle, ou l'un des puits, 50µl de bouillon Mueller-Hinton seul a été ajouté (témoin positif), tandis que dans l'autre, 50µl de Tween 80 à 1% a été ajouté, afin d'exclure tout effet antibactérien du Tween 80.

Après incubation pendant 18 heures à 37°C, 30µl d'une solution de résazurine à 0.015% ont été ajoutés pour tous les puits pour révéler la croissance bactérienne. Cette dernière, se manifeste par une couleur rose, due à la réduction de la résazurine (bleue) en résorufine (rose). La CMI correspond donc, au puits contenant la plus faible concentration d'huile essentielle, et présentant une coloration bleue (**Boonyanugomol et al., 2017**).

### I.7. Analyse statistique

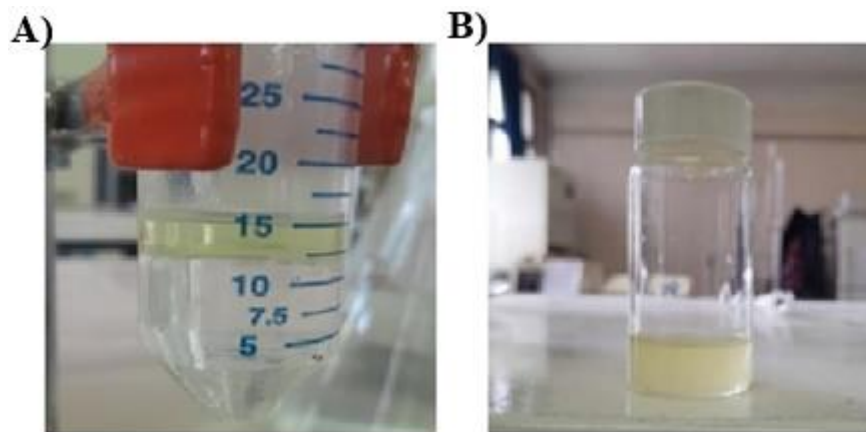
Après la mesure des diamètres des zones d'inhibition, la moyenne des diamètres des disques combinés et celle des sommes des diamètres des disques individuels, ont été comparées par le test t à deux échantillons appariés, en utilisant le logiciel SPSS (version 25.00), afin de savoir la significativité de la différence, au risque  $\alpha$  de 0,05.

## *Résultats et discussion*

## II. Résultats et discussion

### II.1. Extraction des huiles essentielles

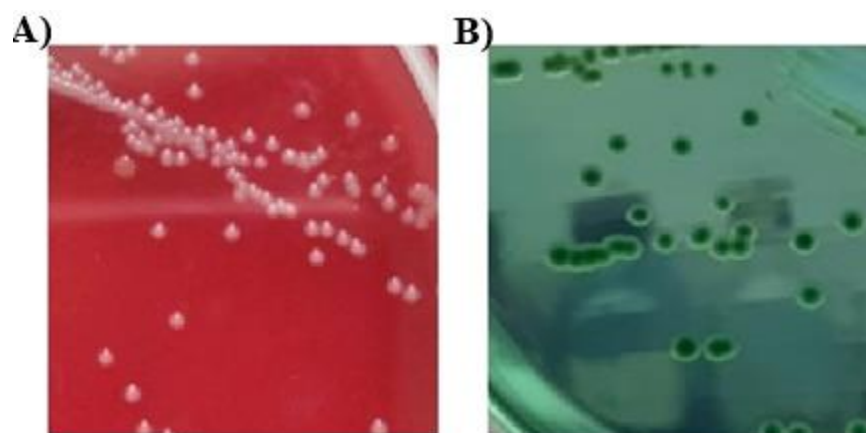
L'entraînement à la vapeur a permis d'extraire des huiles essentielles avec un rendement de 0,42%, pour *S. jordanii* et de 0,16% pour *S. officinalis*. L'aspect des deux huiles essentielles obtenues illustrées dans la figure 14.



**Figure 14** : L'aspect des deux huiles essentielles : **A** : HE de *S. jordanii*. **B** : HE de *S. officinalis*

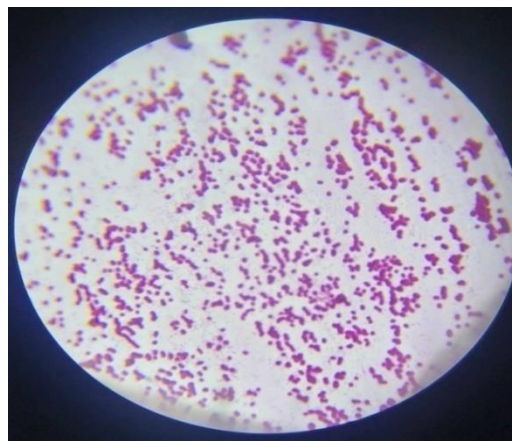
### II.2. Isolement et identification des souches

Les souches isolées ont été identifiées par des examens macroscopiques et microscopiques, après purification sur gélose Hektoen. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les colonies d'*A. baumannii* apparaissent généralement d'aspect non punctiforme et de forme circulaire, de surface lisse avec des bords réguliers, la chromogénèse et l'opacité varient en fonction du milieu de culture utilisé, comme illustré dans la figure 15.



**Figure 15** : Aspect des colonies isolées d'*A. baumannii* ; **A** : sur gélose au sang frais ; **B** : sur le milieu Hektoen

L'observation microscopique, après réalisation d'une coloration de Gram sur une culture jeune, a permis de mettre en évidence que les cellules d'*A. baumannii* se présente sous forme de coccobacilles à Gram négatif (colorées en rose) figure 16, cependant quelques colonies peuvent conserver le colorant primaire (violet) résultant en une coloration bipolaire.



**Figure 16 :** Observation microscopique après coloration de Gram d'*A.baumannii*

L'identification biochimique des souches d'*A. baumannii* a été réalisée à l'aide du système automatisé Vitek 2 (bioMérieux). Ce système utilise des cartouches contenant des substrats biochimiques pour détecter et identifier les activités enzymatiques et métaboliques spécifiques des bactéries (Pincus, 2010) et permet une identification rapide et précise des bactéries (Moehario et al., 2021). Cette identification a permis de confirmer la présence de cette bactérie avec une probabilité de 99% comme illustré dans l'annexe 1.

### II.3. Antibiogramme

Les profils de sensibilité antimicrobienne des 23 isolats d'*A. baumannii* sont présentés dans le tableau 04.

Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que la totalité des 23 isolats d'*A. baumannii* examinés étaient résistants à tous les antibiotiques. Ce qui nous a permis de les catégorisées comme étant extrêmement résistante (XDR). Ces observations soutiennent les conclusions rapportées par Shi et al., (2020), suggérant une augmentation du taux des souches d'*A. baumannii* XDR, en raison de leur capacité à développer des mécanismes de résistance multiples contre divers agents antimicrobiens, comme, la synthèse d'enzymes hydrolysant les  $\beta$ -lactamines, la surexpression de l'enzyme AmpC, la production d'enzymes modificateurs des aminoglycosides, la modification des sites de liaison des fluoroquinolones, l'expression de l'enzyme OXA-23 carbapénémase, l'hyperactivation des systèmes d'efflux, ainsi que la perte des protéines liant la pénicilline (PLP). En outre, l'émergence de la résistance chez *A.*

*baumannii* pourrait être aggravée par la pression de sélection induite par l'utilisation excessive d'antibiotiques à large spectre. Cette hypothèse a été appuyée par les travaux de *Elouennas et al.*, (2003) qui ont démontré une corrélation significative entre l'usage intensif d'antimicrobiens et l'apparition de souches résistantes.

**Tableau 04** : Profil de résistance des souches d'*A. baumannii* aux antibiotiques testés

Antibiotiques	Phénotype des souches																							
	AB 1488	AB 1902	AB 1995	AB 2653	AB 2754	AB 3331	AB 2145	AB 2240	AB 2385	AB 2229	AB 2522	AB 2588	AB 2723	AB 2758	AB 2897	AB 2899	AB 3080	AB 3147	AB 3138	AB 3137	AB 3329	AB 3586	AB 3391	
CAZ	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TIC	R	R	R	R	R	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT	R	R	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
CTX	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
PIP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TCC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	NT	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	NT
IMP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AK	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
GEN	R	R	R	R	R	R	R	R	NT	NT	R	R	R	NT	NT	NT	R	R	NT	NT	NT	R	NT	
NET	R	NT	R	NT	R	R	R	R	R	NT	R	R	R	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	R	R	R	
TOB	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
DO	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CIP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
LEV	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	R	R	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	
SXT	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

**AB** : *Acinetobacter baumannii* **NT** : non testé **R** : résistante

#### II.4. Détection phénotypique de carbapénémases

Sur les 6 souches d'*A. baumannii* testées, quatre ont démontré une activité carbapénémase positive lors de l'évaluation par la méthode simplifiée d'inactivation des carbapénèmes (sCIM) comme illustré dans la figure 17.

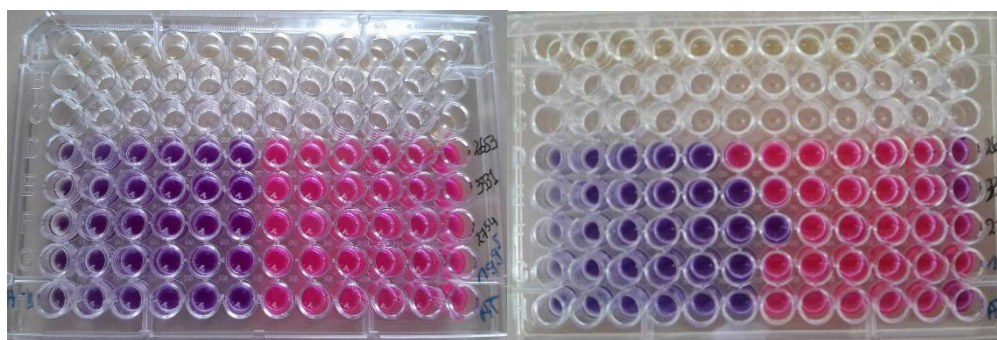


**Figure 17** : Résultats du test sCIM des souches d'*A. baumannii*

Les zones d'inhibition observées varient selon les souches testées. Trois souches (1902, 2753 et 3331) ont produit des zones de 6 mm de diamètre, tandis que la souche 1995 a généré une zone de 12 mm, ce qui indique la production de carbapénèmases. En revanche, la présence de ces enzymes n'a pas pu être déterminée pour les souches 1488 et 2653 qui ont donné des zones plus larges de 23 mm (Jing et al., 2018). Ces observations sont comparables à celles de **Jing et al. (2018)**, qui ont testé 73 souches d'*A. baumannii* par la sCIM, parmi lesquelles 53 ont été positives, ce qui démontre la fréquence élevée de ces enzymes chez cette espèce bactérienne. Cependant, des tests d'identification génétique devraient être appliqués pour identifier la classe des carbapénèmases synthétisées.

### II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

La moyenne des diamètres des zones d'inhibition et les CMI de l'huile essentielle de *S. jordannii* et de *S. officinalis* contre les sept souches d'*A. baumannii* testées sont représentés dans le tableau 05. Les résultats de notre étude ont montré que les huiles essentielles testées ont exercé un effet antibactérien modéré ( $8 < \text{DZI} < 13 \text{ mm}$ ) contre les souches examinées. Cependant, l'huile de *S. officinalis* a été significativement plus active ( $p\text{-value} < 0.05$ ) avec des zones d'inhibition, allant de 8,50 à 13 mm, et des CMI allant de 3,125 à 12,5 mg/ml, par rapport à celle de *S. jordannii* J.B Walker qui a montré des diamètres d'inhibition variant de 7,83 à et 12.83 mm et des CMI égales à 6,25 mg/ml. Les résultats des tests des CMI des deux huiles sont montrés dans la figure 18.



**Figure 18** : CMI sur microplaque de l'HESO à droite et de l'HESJ à gauche

**Tableau 05** : DZI et CMI de l'HE de *Salvia jordanii* J.B walker et de *Salvia officinalis*

Souches	<i>Salvia jordanii</i> J.B walker		<i>S. officinalis</i>	
	DZI sans disque (mm)	CMI (mg ml <sup>-1</sup> )	DZI sans disque (mm)	CMI (mg ml <sup>-1</sup> )
<i>A.baumannii</i> 1488	9.50 ±1.30	6.25±0	9.83 ±1.18	6.25±0
<i>A.baumannii</i> 1902	9.00±0.66	6.25±0	10.67±0.52	6.25±0
<i>A.baumannii</i> 1995	8.42±0.72	6.25±0	9.00±0.50	6.25±0
<i>A.baumannii</i> 2653	7.83±0.38	6.25±0	8.50±0.50	12.5±0
<i>A.baumannii</i> 2754	9.45±1.25	6.25±0	10.83±0.58	3.125±0
<i>A.baumannii</i> 3331	8.42±0.95	6.25±0	10.00±0.50	6.25±0
<i>A. baumannii</i> ATCC 19906	12.83±0.76	6.25±0	13.00±1.73	6.25±0

**DZI** : diamètre de la zone d'inhibition ; **CMI** : concentration minimale inhibitrice

Nos résultats corroborent avec ceux d'une étude antérieure ayant testé l'activité des huiles essentielles de *S. officinalis* et *S.virgata*, et qui a démontré une faible activité contre *Escherichia coli*, (**Golparvar et al., 2017**), et celle de **Harfouch et al., (2019)**, dont l'huile essentielle de sauge présentait une activité antibactérienne plus faible contre *Pseudomonas aeruginosa* (DZI=10 mm), par rapport à *Staphylococcus aureus* (DZI=13 mm). Cette différence d'efficacité entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, pourrait être expliquée par la présence d'une membrane externe (**Habib et al., 2021**).

L'activité de ces huiles essentielles est, généralement, corrélée à des composés chimiques comme, le 1,8-cinéole, le  $\beta$ -caryophyllène, la thujone, le camphre et le bornéol. Cependant les connaissances actuelles indiquent que l'effet synergique ou antagoniste des composés mineurs dans le mélange doit également être pris en compte (**Golparvar et al., 2017**). **Alizadeh & Shaabani, (2014)** ont rapporté que les différences d'activité antibactérienne entre les deux huiles étudiées peuvent s'expliquer, en partie, par les variations de leur composition chimique, mettant en lumière la complexité des interactions entre les composants des huiles essentielles et leur efficacité antimicrobienne. De plus, la variation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles entre les souches testées pourrait s'expliquer par le type de souches au sein de la même espèce de bactéries (**Golparvar et al., 2017**).

Le mécanisme d'action de ces huiles essentielles pourrait être expliqué par leur effet sur la membrane cytoplasmique bactérienne, comme suggéré par **Habib et al. (2021)**. Leur nature lipophile faciliterait leur pénétration dans la membrane cellulaire, altérant ainsi son intégrité et sa perméabilité. Ce processus entraînerait l'expansion de la membrane, augmenterait sa

fluidité et perturberait ses fonctions vitales, compromettant potentiellement la viabilité bactérienne.

## II.6. Combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques

Les tableaux (06, 07, 08, 09) représentent les résultats de l'effet combiné des deux HES de *S. jordanii* (HESJ) et *S. officinalis* (HESO) avec quatre antibiotiques : Amikacine (AK), Céfotaxime (CAZ), Imipènème (IMP), Ciprofloxacine (CIP), sur les 7 souches d'*A. baumannii*. Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition n'incluent pas le diamètre du disque (6 mm) dans cette partie.

**Tableau 06** : Effet combiné de l'HESJ et l'HESO avec l'Amikacine (AK)

Souches d'AB	HESJ	DC AK et HESJ	Somme AK et HESJ	E	HESO	DC AK et HESO	Somme AK et HESO	E
<i>A.baumannii</i> 1488	3,50±1,30	7,83±2,57	3,50±1,30	S	3,83±1,18	3,00±0,00	3,83±1,18	A
<i>A. baumannii</i> 1902	3,00±0,66	9,00±2,00	5,00±0,66	S	4,67±0,52	6,07±0,60	6,67±0,52	S
<i>A. baumannii</i> 1995	2,42±0,72	4,67±1,15	2,42±0,72	S	3,00±0,50	3,17±0,76	3,00±0,50	AD
<i>A. baumannii</i> 2653	1,83±0,38	6,00±2,00	1,83±0,38	S	2,50±0,50	5,50±2,78	2,50±0,50	S
<i>A. baumannii</i> 2754	3,45±1,25	9,50±0,50	3,45±1,25	S	4,83±0,58	3,33±1,15	4,83±0,58	A
<i>A. baumannii</i> 3331	2,42±0,95	8,50±0,87	4,25±1,25	S	4,00±0,50	7,00±0,50	5,83±0,76	S
<i>A. baumannii</i> ATCC 19906	6,92±0,52	19,33±2,75	24,92±2,13	A	7,75±0,66	21,67±2,52	25,75±1,64	A

S : synergie, A : antagonism, AD: additif, E:effet, DC: disque combiné

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *S. jordanii* a exercé un effet synergique avec l'Amikacine contre les six souches cliniques. En revanche, l'huile essentielle de *S. officinalis* a présenté trois effets synergiques (1902, 2653, 3331), trois antagonismes (1488, 2754, 1906), et un effet additif (1995). De plus, l'analyse statistique nous a permis de confirmer que la combinaison d'AK avec l'HESJ est significativement meilleure (p-value < 0.05), que sa combinaison avec l'HESO (p-value > 0.05). Nos résultats étaient en partie similaires à ceux de **Fatemi et al., (2020)**, qui ont montré qu'une huile essentielle appartenant au genre *Salvia* produisait des effets synergiques et un effet additif avec l'Amikacine, contre les souches d'*A. baumannii*.

Cette synergie pourrait être expliquée par le fait que l'huile essentielle exerce un effet inhibiteur sur l'action des pompes à efflux qui expulsent l'AK, lui permettant ainsi d'arriver à sa cible et d'exercer son effet antibactérien (**Fatemi et al., 2020**). Ainsi nos huiles pourraient être utilisées en association avec l'AK pour diminuer la dose efficace de cet antibiotique. Mais, des études cliniques sont nécessaires pour démontrer leur efficacité in vivo (**Mahboubi et Mehdi Feizabadi, 2016**).

**Tableau 07** : Effet combiné de l'HESJ et l'HESO avec la ceftazidime (CAZ)

Souches	HESJ	DC CAZ et HESJ	Somme CAZ et HESJ	E	HESO	DC CAZ et HESO	Somme CAZ et HESO	E
<i>A. baumannii</i> 1488	3,50±1,30	3,67±0,58	3,50±1,30	AD	3,83±1,18	3,33±0,58	3,83±1,18	A
<i>A. baumannii</i> 1902	3,00±0,66	2,67±0,58	3,00±0,66	AD	4,67±0,52	4,83±0,29	4,67±0,52	AD
<i>A. baumannii</i> 1995	2,42±0,72	3,00±1,00	2,42±0,72	S	3,00±0,50	2,67±0,58	3,00±0,50	A
<i>A. baumannii</i> 2653	1,83±0,38	3,00±0,00	1,83±0,38	S	2,50±0,50	2,67±0,58	2,50±0,50	AD
<i>A. baumannii</i> 2754	3,45±1,25	3,67±0,58	3,45±1,25	AD	4,83±0,58	2,67±0,58	4,83±0,58	A
<i>A. baumannii</i> 3331	2,42±0,95	3,50±0,50	2,42±0,95	S	4,00±0,50	3,83±0,76	4,00±0,50	A
<i>A. baumannii</i> ATCC 19906	6,92±0,52	9,67±1,76	10,58±1,81	A	7,75±0,66	10,67±2,89	11,42±1,66	A

S : synergie A : antagonisme, AD: additif, E:effet, DC: disque combiné

Les résultats des combinaisons révèlent principalement des effets antagonistes et additifs avec les deux HES, à l'exception des souches (1995, 2653, 3331) ou l'huile essentielle de *S. jordanii* a montrée un effet synergique. On constate donc que nos huiles n'ont pas accentué l'activité antibactérienne de la CAZ, ce qui a été confirmé par le test statistique, indiquant l'absence de différence significative entre la somme des deux effets individuels et l'activité combiné (p-value > 0,05). Ces résultats se sont avérés différents, de ceux qui ont été rapporté par des études antérieures qui ont testé des huiles appartenant à la famille des *Lamiaceae*. A l'instar de ,**Mentha et al., (2022)**, qui ont rapporté un effet synergique entre l'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* et la CAZ sur les souches d'*A. baumannii*. Cette différence pourrait être expliquée par la différence de la composition chimiques entre nos deux huiles essentielles et l'huile de *Mentha pulegium L.*(**Farah et al., 2001**)

Les effets antagonistes et additifs obtenus majoritairement dans nos résultats pourraient être expliquer par le fait que l'huile et l'antibiotique agissent au même temps sur la même cible bactérienne (**Wagner, 2011**).

Concernant l'imipénème, nos tests ont révélé des résultats variés. Pour *S. jordanii*, on a observé des effets synergiques sur les souches 1902, 1995, 3331. Des effets antagonistes ont été constatés contre les souches 1488 et 2653, et un effet additif contre la souche 2754. Par ailleurs la combinaison de l'IMP avec l'huile de *S. officinalis*, a produit des effets synergiques pour les souches 1995, 2653, et 2754 et des effets antagonistes pour les souches 1488, 1902, 3331. Ces résultats montrent une grande variabilité des effets selon les souches d'*A. baumannii*. Les effets synergiques obtenus, dans notre étude, ont été aussi rapporté par l'étude de (**Fatemi et al., 2020**) après avoir testé une huile essentielle appartenant au genre *Salvia* avec l'Imipénème.

**Tableau 08** : Effet combiné de l'HESJ et l'HESO avec l'imipénème (IMP)

Souches	HESJ	DC IMP et HESJ	Somme IMP et HESJ	E	HESO	DC IMP et HESO	Somme IMP et HESO	E
<i>A. baumannii</i> 1488	3,50±1,30	6,83±1,26	9,00±1,30	<b>A</b>	3,83±1,18	8,00±2,00	9,33±1,18	<b>A</b>
<i>A. baumannii</i> 1902	3,00±0,66	5,50±0,87	3,00±0,66	<b>S</b>	4,67±0,52	4,00±1,00	4,67±0,52	<b>A</b>
<i>A. baumannii</i> 1995	2,42±0,72	3,17±0,58	2,42±0,72	<b>S</b>	3,00±0,50	6,33±0,58	3,00±0,50	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> 2653	1,83±0,38	2,50±0,50	3,17±0,95	<b>A</b>	2,50±0,50	6,00±1,00	3,83±0,76	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> 2754	3,45±1,25	3,83±3,55	3,45±1,25	<b>AD</b>	4,83±0,58	8,17±2,25	4,83±0,58	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> 3331	2,42±0,95	4,17±1,61	2,42±0,95	<b>S</b>	4,00±0,50	3,67±1,15	4,00±0,50	<b>A</b>
<i>A. baumannii</i> ATCC 19906	6,92±0,52	18,17±4,16	18,42±1,63	<b>AD</b>	7,75±0,66	12±1	19,25±0,90	<b>A</b>

**S** : synergie **A** : antagonisme, **AD**: additif, **E**:effet, **DC**: disque combiné

La combinaison de l'une des deux huiles essentielles avec la ciprofloxacine, a abouti à trois effets synergiques contre les souches 1488, 1902,3331, deux effets additifs 1995 et 2653, ainsi qu'un antagonisme contre la souche 2754. L'analyse statistique a montré que la combinaison de chaque huile avec le CIP est significativement synergique (p-values <0,05), indiquant ainsi que l'action de l'antibiotique est améliorée après addition de l'huile essentielle.

**Tableau 09** : Effets combinés de l'HESJ et l'HESO avec la ciprofloxacine (CIP)

Souches	HESJ	DC CIP et HESJ	Somme CIP et HESJ	E	HESO	DC CIP et HESO	Somme CIP et HESO	E
<i>A. baumannii</i> 1488	3,50±1,30	4,17±0,76	3,50±1,30	<b>S</b>	3,83±1,18	5,50±1,80	3,83±1,18	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> 1902	3,00±0,66	4,83±1,04	3,00±0,66	<b>S</b>	4,67±0,52	7,00±0,00	4,67±0,52	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> 1995	2,42±0,72	2,67±1,15	2,42±0,72	<b>AD</b>	3,00±0,50	3,00±0,00	3,00±0,50	<b>AD</b>
<i>A. baumannii</i> 2653	1,83±0,38	2,17±0,76	1,83±0,38	<b>AD</b>	2,50±0,50	2,83±1,61	2,50±0,50	<b>AD</b>
<i>A. baumannii</i> 2754	3,45±1,25	2,83±1,61	3,45±1,25	<b>A</b>	4,83±0,58	3,00±1,00	4,83±0,58	<b>A</b>
<i>A. baumannii</i> 3331	2,42±0,95	4,50±1,00	2,42±0,95	<b>S</b>	4,00±0,50	9,50±0,87	4,00±0,50	<b>S</b>
<i>A. baumannii</i> ATCC 19906	6,92±0,52	9±2,6	6,92±0,52	<b>S</b>	7,75±0,66	8,67±0,29	7,75±0,66	<b>S</b>

**S** : synergie **A** : antagonisme, **AD**: additif, **E**:effet, **DC**: disque combiné

Nos résultats s'alignent avec ceux de **Saviuc et al., (2016)** qui ont mis en évidence une activité synergique entre l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (désormais nommée *Salvia rosmarinus*) et la CIP contre les souches d'*A. baumannii*. De même, les travaux de **Mentha et al., (2022)** ont démontré un effet synergique entre des huiles essentielles de la famille des *Lamiaceae* et la CIP face à *A. baumannii*. Ces concordances renforcent la validité

de nos observations et soulignent le potentiel des huiles essentielles de la famille des *Lamiaceae* en combinaison avec le CIP contre *A. baumannii*.

En résumé les différentes activités observées pour les huiles essentielles de *S. officinalis* et *S. jordannii* (synergie, antagonisme et additif) peuvent s'expliquer par le mode d'action des différents composés des HEs en combinaison avec les antibiotiques **Mentha et al., (2022)** Pour cela, différentes hypothèses doivent être envisagées.

Les interactions entre composés antimicrobiens, notamment entre les composés d'huiles essentielles (CHE) et les antibiotiques, présentent une complexité remarquable. Les CHE se distinguent par leur variété de mécanismes d'action, agissant de manière séquentielle et non sélective sur diverses cibles cellulaires. Cette non-spécificité peut entraîner des effets variés lorsqu'ils sont combinés avec d'autres agents antimicrobiens (**Simbu et al., 2024**). D'une part, la compétition pour les mêmes sites de liaison cellulaires peut conduire à des relations antagonistes, réduisant paradoxalement l'efficacité globale de la combinaison. D'autre part, un effet synergique multi-cibles peut émerger, impliquant une vaste gamme de composants cellulaires tels que, les enzymes, substrats, métabolites, protéines, récepteurs, canaux ioniques, protéines de transport, ribosomes, et acides nucléiques (**Mentha et al., 2022**).

Malgré le potentiel prometteur que pourraient avoir les combinaisons d'huiles essentielles dans la lutte contre les agents pathogènes résistants, la littérature scientifique concernant leur efficacité spécifique contre *Acinetobacter baumannii* demeurerait limitée. Cette lacune dans la recherche soulignerait la nécessité d'approfondir les investigations sur l'action de ces combinaisons contre ce pathogène opportuniste particulièrement préoccupant.

# *Conclusion*

En conclusion, notre étude souligne l'urgence de trouver de nouvelles approches thérapeutiques contre *Acinetobacter baumannii*, un pathogène opportuniste devenu un défi majeur en milieu hospitalier. La capacité remarquable de cette bactérie à développer des résistances multiples aux antibiotiques, y compris ceux de dernière ligne, ainsi que sa persistance dans l'environnement, en font une menace croissante pour les patients vulnérables.

L'extraction des huiles essentielles des deux plantes de *Salvia jordanii* et *Salvia officinalis*, a été réalisée par la méthode de distillation par entraînement à la vapeur d'eau qui a permis d'obtenir des rendements de 0,42%, pour *S. jordanii* et de 0,16% pour *S. officinalis*.

Les résultats obtenus avec les huiles essentielles testées contre *A. baumannii* ont révélés une activité antibactérienne modérée pour les deux huiles essentielles, en effet l'huile de *S. jordanii* a produit des zones d'inhibition allant de 7,83 à 9,50 mm de diamètre, tandis que celle de *S. officinalis* a généré des zones de 8,50 à 10,67 mm. Enfin, l'étude a exploré les effets de la combinaison de ces huiles essentielles avec quatre antibiotiques: amikacine, ceftazidime, imipénème et ciprofloxacine. Ces associations ont démontré divers effets, allant de synergiques à additifs, voir antagonistes selon les cas.

Les résultats obtenus avec les huiles essentielles de *Salvia jordanii* et *Salvia officinalis*, bien que modestes en utilisation isolée, ouvrent des perspectives intéressantes lorsqu'elles sont combinées avec des antibiotiques conventionnels. Ces synergies potentielles pourraient offrir de nouvelles stratégies pour contrer la multirésistance d'*A. baumannii*, en permettant de restaurer l'efficacité d'antibiotiques devenus inefficaces ou de réduire les doses nécessaires.

Toutefois, des études approfondies restent indispensables pour comprendre les mécanismes d'action de ces combinaisons, optimiser leur efficacité et évaluer leur innocuité avant d'envisager une application clinique.

Cette approche novatrice pourrait contribuer à l'arsenal thérapeutique contre *A. baumannii* et, plus largement, à la lutte contre la résistance aux antimicrobiens, un des défis majeurs de santé publique du 21<sup>e</sup> siècle.

# *Références Bibliographiques*

- **Adams, M. D., Goglin, K., Molyneaux, N., Hujer, K. M., Lavender, H., Jamison, J. J., MacDonald, I. J., Martin, K. M., Russo, T., Campagnari, A. A., Hujer, A. M., Bonomo, R. A., & Gill, S. R. (2008).** Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology*, *190*(24), 8053–8064. <https://doi.org/10.1128/JB.00834-08>
- **Ahmad, N. H., & Mohammad, G. A. (2020).** Identification of *Acinetobacter baumannii* and Determination of MDR and XDR Strains. *Baghdad Science Journal*, *17*(3). <https://doi.org/10.21123/bsj.2020.17.3.0726>
- **Alizadeh, A., & Shaabani, M. (2014).** activity in *Salvia officinalis L . cultivated in Iran*. November.
- **Aljaafari, M., Sultan, A. M., Abushelaibi, A., & Lim, K.-S. L. and S.-H. E. (2019).** Essential Oils: Partnering with Antibiotics. *Intech*, *11*(tourism), 13.
- **Almasaudi, S. B. (2016).** *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*(3), 586–596. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009>
- **Anyanwu, M. U., & Nwobi, O. C. (2022).** *Mobile Tigecycline Resistance : An Emerging Health Catastrophe Requiring Urgent One Health Global Intervention*. *13*(August). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.808744>
- **Asli, S., Kartal, M., Souto, B., & Akano, B. (2024).** *Journal of Drug Delivery Science and Technology Development of phytoactive essential oils-composed organogels against oral pathogens*. *97*(October 2023). <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105778>
- **Bakkali, F., & Idaomar, M. (2007).** *Biological effects of essential oils – A review*. *46*, 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- **Becker, B., & Cooper, M. A. (2013).** Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS Chemical Biology*, *8*(1), 105–115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
- **Behradmanesh, S., Derees, F., & Rafeian-Kopaei, M. (2013).** Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *Journal of Renal Injury Prevention*, *2*(2), 51–54. <https://doi.org/10.12861/jrip.2013.18>
- **Benbelaïd, F., Khadir Abdelmounaïm, Bendahou, M., Zenati, F., Bellahsene, C., Muselli, A., & Costa, J. (2016).** Antimicrobial activity of *Rosmarinus eriocalyx* essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria. *Journal of Coastal Life*

- Medicine*, 4(1), 39–44. <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016j5-221>
- **Bendif, H., Boudjeniba, M., Djamel Miara, M., Biqiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., Lupidi, G., Quassinti, L., Sagratini, G., Vitali, L. A., Vittori, S., & Maggi, F. (2017).** Rosmarinus eriocalyx: An alternative to Rosmarinus officinalis as a source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 218, 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.063>
  - **Blowman, K., Magalhães, M., Lemos, M. F. L., Cabral, C., & Pires, I. M. (2018).** Anticancer Properties of Essential Oils and Other Natural Products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3149362>
  - **Bolouri, P., Salami, R., Kouhi, S., Kordi, M., Asgari Lajayer, B., Hadian, J., & Astatkie, T. (2022).** Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. *Molecules*, 27(24), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules27248999>
  - **Boonyanugomol, W., Kraisriwattana, K., Rukseree, K., Boonsam, K., & Narachai, P. (2017).** In vitro synergistic antibacterial activity of the essential oil from Zingiber cassumunar Roxb against extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii strains. *Journal of Infection and Public Health*, 10(5), 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.01.008>
  - **BOUKHATEM, N. M., FERHAT, A., & KAMELI, A. (2019).** Méthodes D'Extraction Et De Distillation Des Huiles Essentielles : Revue De Littérature. *BOUKHATEM et Al. Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653–1659. [www.agrobiologia.net](http://www.agrobiologia.net)
  - **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, October 2018. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1118-z>
  - **Buckner, C. A., Lafrenie, R. M., Dénommée, J. A., Caswell, J. M., Want, D. A., Gan, G. G., Leong, Y. C., Bee, P. C., Chin, E., Teh, A. K. H., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., Masuelli, M., Korrapati, S., Kurra, P., ... Mathijssen, R. H. J. (2016).** We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech*, 11(tourism), 13. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
  - **Burt, S. (2004).** *Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods — a review*. 94, 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

- **Camilli, A. (2023).** *opportuniste : état des lieux et étude de l'expression de gènes impliqués dans la transformation bactérienne* To cite this version: HAL Id: dumas-03860501.
- **Carle, S. (2009).** *La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !*
- **Castanheira, M., Mendes, R. E., & Gales, A. C. (2023a).** Global Epidemiology and Mechanisms of Resistance of *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus Complex. *Clinical Infectious Diseases*, 76. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad109>
- **Charles, D. J., & Simon, J. E. (2019).** Comparison of Extraction Methods for the Rapid Determination of Essential Oil Content and Composition of Basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(3), 458–462. <https://doi.org/10.21273/jashs.115.3.458>
- **Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytotherapie*, 14(6), 355–362. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0996-1>
- **Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017).** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4(3), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- **De Almeida-Couto, J. M. F., Ressutte, J. B., Cardozo-Filho, L., & Cabral, V. F. (2022).** Current extraction methods and potential use of essential oils for quality and safety assurance of foods. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 94(2), 1–20. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220191270>
- **Decré, D. (2012).** *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: Un modèle d'adaptation. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2012(441), 43–52. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71412-0](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71412-0)
- **Doi, Y., Murray, G. L., & Peleg, A. Y. (2015).** *Acinetobacter baumannii : Evolution of Antimicrobial Resistance — Treatment Options*. 1(212).
- **Elouennas, M., Bajou, T., Lemnouer, A. H., Foissaud, V., Hervé, V., & Baaj, A. J. (2003).** *Acinetobacter baumannii*: Étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 33(7), 361–364. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(03\)00205-1](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(03)00205-1)
- **Enterobacteries, U. (1991).** *Need for a Typing System in the Genus Acinetobacter*. 3, 37–38.

- **El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Aït Addi, E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R et Elaissari, A. (2015).** Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* 483:220-243.
- **Fatemi, N., Sharifmoghadam, M. R., Bahreini, M., Khameneh, B., & Shadifar, H. (2020).** Antibacterial and Synergistic Effects of Herbal Extracts in Combination with Amikacin and Imipenem Against Multidrug-Resistant Isolates of Acinetobacter. *Current Microbiology*, 77(9), 1959–1967. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02105-0>
- **Filimon, R., & Tarași, I. (2004).** Cultural and Biochemical Characteristics of Acinetobacter Spp . Strains Isolated From Hospital Units. *The Journal of Preventive Medicine*, 12(3–4), 35–42.
- **Ghorbani, A., & Esmaeilizadeh, M. (2017).** Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(4), 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>
- **Golparvar, A. R., Hadipanah, A., Gheisari, M. M., Rahmaniyan, S., & Khorrami, M. (2017).** *Journal of Herbal Drug.* 8(2), 71–78. <https://doi.org/10.18869/JHD.2017.71>
- **Guillot, J. F. (1989).** Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques To cite this version : HAL Id : hal-00901839. *Annuaire, Recherche Vétérinaire*, 3–16.
- **Habib\*, T. I., Meena, S., Ranote, P., Karnani, Tamanna Chauhan, U. V. S., & Kumar, A. (2021).** anti-bacterial and anti-fungal activity of select essential oils. 6(6), 586–591.
- **Harfouch, R. M., Darwish, M., Al-asadi, W., Mohammad, A. F., & Gharib, N. M. (2019).** Antibacterial Activity of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* , *Salvia officinalis* and *Anthemis nobilis* Widespread in the Syrian Coast *ABSTRACT :12*(July), 3410–3412. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00576.6>
- **Hesham, H. A. R., Abdulrahman, H. N., & Rosli, M. Y. (2016).** Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117–127.
- **Hidri, N. (2012a).** Identification-d-Acinetobacter-spp--au-lab\_2012\_Revue-Francophone-des-Labora. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES*, 441.
- **Hidri, N. (2012b).** Identification d’Acinetobacter spp. au laboratoire. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2012(441), 37–42. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71411-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71411-9)
- **Howard, A., O’Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. (2012).** Acinetobacter baumannii An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3), 5.

<https://doi.org/10.4161/viru.19700>

- **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>
- **Jakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., & Banjari, I. (2019).** Bioactive profile of various *salvia officinalis* L. Preparations. *Plants*, *8*(3). <https://doi.org/10.3390/plants8030055>
- **Janssen, A. M., Scheffer, J. J. C., & Baerheim Svendsen, A. (1987).** Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica*, *53*(5), 395–398. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962755>
- **Jian-Xia, Z., Ding-Yun, F., Xia, L., Jia-Xin, Z., Wen-Bin, W., & Tian-Tuo, Z. (2023).** Advances in research on virulence factors of *Acinetobacter baumannii* and their potential as novel therapeutic targets. *Journal of Applied Microbiology*, *134*(2), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac089>
- **Jing, X., Zhou, H., Min, X., Zhang, X., Yang, Q., Du, S., Li, Y., Yu, F., Jia, M., Zhan, Y., Zeng, Y., Yang, B., Pan, Y., Lu, B., Liu, R., & Zeng, J. (2018).** The Simplified Carbapenem Inactivation Method (sCIM) for Simple and Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli. *Frontiers in Microbiology*, *9*(October), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02391>
- **June, C. M., Muckenthaler, T. J., Schroder, E. C., Klamer, Z. L., Wawrzak, Z., Powers, R. A., Szarecka, A., & Leonard, D. A. (2016).** The structure of a doripenem-bound OXA-51 class D  $\beta$ -lactamase variant with enhanced carbapenemase activity. *Protein Science*, *25*(12), 2152–2163. <https://doi.org/10.1002/pro.3040>
- **Jung, J., & Park, W. (2015).** *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*(6), 2533–2548. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6439-y>
- **Karampatakis, T., Tsergouli, K., & Behzadi, P. (2024).** Pan-Genome Plasticity and Virulence Factors: A Natural Treasure Trove for *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*, *13*(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030257>
- **Karruli, A., Massa, A., Bertolino, L., Andini, R., Sansone, P., Dongiovanni, S., Pace, M. C., Pota, V., & Durante-Mangoni, E. (2022).** Clinical Characteristics and Outcome of MDR/XDR Bacterial Infections in a Neuromuscular Semi-Intensive/Sub-Intensive Care

Unit. *Antibiotics*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101411>

- **Kebede, B. H., Forsido, S. F., Tola, Y. B., & Astatkie, T. (2021).** Free radical scavenging capacity, antibacterial activity and essential oil composition of turmeric (*Curcuma domestica*) varieties grown in Ethiopia. *Heliyon*, 7(2), e06239. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06239>
- **Khalilov, R., Mammadova, M., & Abdullayeva, S. (2023).** Mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics. *BULLETIN of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. BIOSCIENCE Series*, 143(3), 115–127. <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2023-144-3-115-127>
- **Knezevic, P., Verica, A., Natasa, S., Emilija, S., Aleksandra, P et NedaMimica-D. (2015).** Antimicrobial activity of Eucalyptus camaldulensis essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Ethnopharmacology*.178: 125-136.
- **Kumar, S., Anwer, R., & Azzi, A. (2021).** Virulence potential and treatment options of multidrug-resistant (Mdr) *Acinetobacter baumannii*. In *Microorganisms* (Vol. 9, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102104>
- **Kurcik-Trajkovska, B. (2009).** *Acinetobacter* spp. - A serious enemy threatening hospitals worldwide. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 2(2), 157–162. <https://doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2009.0043>
- **Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021).** *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 1–31. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>
- **L. Dijkshoorn, A. N. (2008).** The diversity of the genus *Acinetobacter*. *Acinetobacter Molecular Microbiology*, 348.
- **Lagha, R., Abdallah, F. Ben, AL-Sarhan, B. O., & Al-Sodany, Y. (2019).** Antibacterial and Biofilm Inhibitory Activity of Medicinal Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* Isolated from UTI Patients. *Molecules*, 24(6), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24061161>
- **Langeveld, W. T., Veldhuizen, E. J. A., & Burt, S. A. (2014).** Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. *Critical Reviews in Microbiology*, 40(1), 76–94. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>
- **López, C., Ayala, J. A., Bonomo, R. A., González, L. J., & Vila, A. J. (2019).** Protein determinants of dissemination and host specificity of metallo- $\beta$ -lactamases. *Nature*

- Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11615-w>
- **Mahboubi, M., & Mehdi Feizabadi, M. (2016).** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Alone and in Combination With Amikacin Against *Acinetobacter* Sp. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5(5), 412–415. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.5.412-415>
  - **Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. Bin, Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022).** Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, 13(October 2021), 100217. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
  - **Mentha, L., Bekka-hadji, F., Bombarda, I., Djoudi, F., Bakour, S., & Touati, A. (2022).** *Chemical Composition and Synergistic Potential of Oils and Antibiotic against Multi-Drug Resistant Bacteria.*
  - **Moehario, L. H., Tjoa, E., Putranata, H., Joon, S., Edbert, D., & Robertus, T. (2021).** Performance of TDR-300B and VITEK®2 for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* in comparison with VITEK®-MS. *Journal of International Medical Research*, 49(2). <https://doi.org/10.1177/0300060521989893>
  - **Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016).** *Mechanisms of Antibiotic Resistance*. 6.
  - **Munoz-Price, L. S., & Weinstein, R. A. (2008).** *Acinetobacter* Infection. *New England Journal of Medicine*, 358(12), 1271–1281. <https://doi.org/10.1056/nejmra070741>
  - **Mussi, M. A., Limansky, A. S., & Viale, A. M. (2005).** Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: Natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of  $\beta$ -barrel outer membrane proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(4), 1432–1440. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1432-1440.2005>
  - **Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156(2), 109–123.
  - **Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
  - **Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>

- *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* (2021). [https://doi.org/10.1007/978-3-662-48986-4\\_300418](https://doi.org/10.1007/978-3-662-48986-4_300418)
- **Pieracci, Y., Ciccarelli, D., Giovanelli, S., Pistelli, L., Flamini, G., Cervelli, C., Mancianti, F., Nardoni, S., Bertelloni, F., & Ebani, V. V. (2021).** Antimicrobial activity and composition of five rosmarinus (Now salvia spp. and varieties) essential oils. *Antibiotics*, *10*(9), 1–12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091090>
- **Pincus, D. H. (2010).** Microbial identification using the bioMérieux VITEK® 2 system. *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*, 1–32.
- **Poirel, L., Bonnin, R. A., & Nordmann, P. (2011).** Genetic basis of antibiotic resistance in pathogenic *Acinetobacter* species. In *IUBMB Life* (Vol. 63, Issue 12). <https://doi.org/10.1002/iub.532>
- **Radaelli, M., da Silva, B. P., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., da Costa, L. A. M. A., & Ethur, E. M. (2016).** Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *clostridium perfringens*. *Brazilian Journal of Microbiology*, *47*(2), 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.10.001>
- **Ren, X., & Palmer, L. D. (2023).** *Acinetobacter* Metabolism in Infection and Antimicrobial Resistance. In *Infection and Immunity* (Vol. 91, Issue 6). <https://doi.org/10.1128/iai.00433-22>
- **Riham A. EL-Hakeema, Sarra E Saleha, Mohammad M Aboulwafaa, b, N. A. H., & ADepartment. (2023).** *Acinetobacter baumannii* Virulence Factors, Resistance Mechanisms, and New Insights on Infection Treatment. *7*(1), 208–230.
- **Roman, H., Niculescu, A. G., Lazăr, V., & Mitache, M. M. (2023).** Antibacterial Efficiency of *Tanacetum vulgare* Essential Oil against ESKAPE Pathogens and Synergisms with Antibiotics. *Antibiotics*, *12*(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111635>
- **Roy, S., Chowdhury, G., Mukhopadhyay, A. K., Dutta, S., & Basu, S. (2022).** Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. In *Frontiers in Medicine* (Vol. 9). <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.793615>
- **Salgado-Camargo, A. D., Castro-Jaimes, S., Gutierrez-Rios, R. M., Lozano, L. F., Altamirano-Pacheco, L., Silva-Sanchez, J., Pérez-Oseguera, Á., Volkow, P., Castillo-Ramírez, S., & Cevallos, M. A. (2020).** Structure and Evolution of *Acinetobacter baumannii* Plasmids. *Frontiers in Microbiology*, *11*(June), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01283>

- **Saviuc, C., Gheorghe, I., Coban, S., Drumea, V., Chifiriuc, M. C., Banu, O., Bezirtzoglou, E., & Lazăr, V. (2016).** Rosmarinus Officinalis essential oil and eucalyptol act as efflux pumps inhibitors and increase ciprofloxacin efficiency against *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter Baumannii* MDR strains. *Romanian Biotechnological Letters*, 21(4), 11796–11804.
- **Shi, J., Cheng, J., Liu, S., Zhu, Y., & Zhu, M. (2024).** *Acinetobacter baumannii*: an evolving and cunning opponent. *Frontiers in Microbiology*, 15(January), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1332108>
- **Shi, J., Sun, T., Cui, Y., Wang, C., Wang, F., Zhou, Y., Miao, H., Shan, Y., & Zhang, Y. (2020).** Multidrug resistant and extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* hospital infection associated with high mortality: A retrospective study in the pediatric intensive care unit. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05321-y>
- **Simbu, S., Orchard, A., & Vuuren, S. van. (2024).** Essential Oil Compounds in Combination with Conventional Antibiotics for Dermatology. *Molecules*, 29(6). <https://doi.org/10.3390/molecules29061225>
- **Soni, S., & Soni, U. N. (2014).** In-vitro anti-bacterial and anti-fungal activity of select essential oils. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 586–591.
- **Sweeney, M. T., Lubbers, B. V., Schwarz, S., & Watts, J. L. (2018).** Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6), 1460–1463. <https://doi.org/10.1093/jac/dky043>
- **Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7), 1231–1249. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>
- **Tu, Q., Pu, M., Li, Y., Wang, Y., Li, M., Song, L., Li, M., An, X., Fan, H., & Tong, Y. (2023).** *Acinetobacter Baumannii* Phages: Past, Present and Future. *Viruses*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/v15030673>
- **Wagner, H. (2011).** Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia*, 82(1), 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.11.016>
- **Wang, Z., Koirala, B., Hernandez, Y., Zimmerman, M., Park, S., Perlin, D. S., &**

- Brady, S. F. (2022).** A naturally inspired antibiotic to target multidrug-resistant pathogens. *Nature*, *601*(7894), 606–611. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04264-x>
- **Wang, Z., Li, H., Zhang, J., Wang, X., Zhang, Y., & Wang, H. (2022).** *Identification of a novel plasmid-mediated tigecycline resistance-related gene, tet (Y), in Acinetobacter baumannii.* October 2021, 58–68.
  - **Wendt, C., Dietze, B., Dietz, E., & Rüden, H. (1997).** Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, *35*(6), 1394–1397. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.6.1394-1397.1997>
  - **Whiteway, C., Breine, A., Philippe, C., & Van der Henst, C. (2022).** *Acinetobacter baumannii.* *Trends in Microbiology*, *30*(2), 199–200. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.11.008>
  - **Wibberg, D., Salto, I. P., Eikmeyer, F. G., Maus, I., Winkler, A., Nordmann, P., & Poirel, L. (2018).** *Complete Genome Sequencing of Acinetobacter baumannii Strain K50 Discloses the Large Conjugative Plasmid pK50a Encoding Carbapenemase OXA-23 and Extended-Spectrum -Lactamase GES-11.* *62*(5), 1–12.
  - **Wu, H.-J., Xiao, Z.-G., Lv, X.-J., Huang, H.-T., Liao, C., Hui, C.-Y., Xu, Y., & Li, H.-F. (2023).** Drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: From molecular mechanisms to potential therapeutics (Review) . *Experimental and Therapeutic Medicine*, *25*(5), 1–10. <https://doi.org/10.3892/etm.2023.11908>
  - **Wu, H. A. O. J. I. A., Xiao, Z. H. I. G., Lv, X. J., & Huang, H. A. I. T. (2023).** *Drug - resistant Acinetobacter baumannii : From molecular mechanisms to potential therapeutics ( Review ).* 1–10. <https://doi.org/10.3892/etm.2023.11908>
  - **Yahav, D., Giske, C. G., Gramatniece, A., Abodakpi, H., Tam, V. H., & Leibovicib, L. (2020).** New  $\beta$ -Lactam– $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combinations Dafna. *American Society for Microbiology*, *34*(1), 1–61.
  - **Yao, Y., Chen, Q., & Zhou, H. (2023).** *Virulence Factors and Pathogenicity Mechanisms of Acinetobacter baumannii in Respiratory Infectious Disea*

## Annexe 01 : Résultats d'identification au Vitek des six souche

Client bioMérieux : 9743		CHU.TIZI OUZOU Unité de microbiologie		Imprimé 20 septembre 2021 08:49:10 WAT													
		Rapport graphique															
Nom du patient :				ID du patient :													
Lieu :				Médecin :													
ID labo : 1488AB				Numéro d'isolat : 1													
Numération :																	
Germe sélectionné : <b>Acinetobacter baumannii complex</b>																	
Source :			Prélevé :														
Commentaires :																	
<b>Informations sur l'identification</b>		Heure de l'analyse :		État :													
Germe sélectionné		99% Probabilité		Final													
Commentaires sur l'Ident.		Acinetobacter baumannii complex															
		Profil biochimique :		0241010003500210													
<b>Détails biochimiques</b>																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHSa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Client bioMérieux : 9743		CHU.TIZI OUZOU Unité de microbiologie		Imprimé 11 octobre 2021 09:22:53 WAT													
		Rapport graphique															
Nom du patient :				ID du patient :													
Lieu :				Médecin :													
ID labo : 1902AB/24				Numéro d'isolat : 1													
Numération :																	
Germe sélectionné : <b>Acinetobacter baumannii complex</b>																	
Source :			Prélevé :														
Commentaires :																	
<b>Informations sur l'identification</b>		Heure de l'analyse :		État :													
Germe sélectionné		99% Probabilité		Final													
Commentaires sur l'Ident.		Acinetobacter baumannii complex															
		Profil biochimique :		0201010103500302													
<b>Détails biochimiques</b>																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHSa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	+			

Client bioMérieux : 9743		CHU.TIZI OUZOU Unité de microbiologie		Imprimé 26 août 2021 15:29:57 WAT													
		Rapport graphique															
Nom du patient :				ID du patient :													
Lieu :				Médecin :													
ID labo : 1999/24				Numéro d'isolat : 1													
Numération :																	
Germe sélectionné : <b>Acinetobacter baumannii complex</b>																	
Source :			Prélevé :														
Commentaires :																	
<b>Informations sur l'identification</b>		Heure de l'analyse :		État :													
Germe sélectionné		6,03 heures		Final													
Commentaires sur l'Ident.		Acinetobacter baumannii complex															
		Profil biochimique :		0241010003500352													
<b>Détails biochimiques</b>																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHSa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			

Client bioMérieux : 9743 CHU.TIZI OUZOU Unite de microbiologie Imprimé 22 octobre 2021 09:41:29 WAT  
 Rapport graphique

Nom du patient : ID du patient :  
 Lieu : ID labo : 2653AB/24 Médecin :  
 Numération : Numéro d'isolat : 1  
 Germe sélectionné : Acinetobacter baumannii complex

Source : Prélevé :

Commentaires :												
Informations sur l'identification		Heure de l'analyse : 5,82 heures	État : Final									
Germe sélectionné		99% Probabilité Acinetobacter baumannii complex										
Commentaires sur l'Ident.		Profil biochimique : 0201010003500312										
Détails biochimiques												
2	APPA -	3	ADO -	4	PyrA -	5	IARL -	7	dCEL +	9	BGAL -	-
10	H2S -	11	BNAG -	12	AGL.Tp -	13	dGLU +	14	GGT -	15	OFF -	-
17	BGLU -	18	dMAL -	19	dMAN -	20	dMNE +	21	BXYL -	22	BAIap -	-
23	ProA -	26	LIP -	27	PLE -	29	TyrA -	31	URE -	32	dSOR -	-
33	SAC -	34	dTAG -	35	dTRE -	36	CIT +	37	MNT +	39	SKG -	-
40	ILATk +	41	AGLU -	42	SUCT +	43	NAGA -	44	AGAL -	45	PHOS -	-
46	GlyA -	47	ODC -	48	LDC -	53	IHISa +	56	CMT +	57	BGUR -	-
58	O129R +	59	GGAA -	61	IML.Ta -	62	ELLM -	64	ILATa +			

Client bioMérieux : 9743 CHU.TIZI OUZOU Unite de microbiologie Imprimé 11 octobre 2021 09:24:42 WAT  
 Rapport graphique

Nom du patient : ID du patient :  
 Lieu : ID labo : 2754AB/24 Médecin :  
 Numération : Numéro d'isolat : 1  
 Germe sélectionné : Acinetobacter baumannii complex

Source : Prélevé :

Commentaires :												
Informations sur l'identification		Heure de l'analyse : 5,80 heures	État : Final									
Germe sélectionné		99% Probabilité Acinetobacter baumannii complex										
Commentaires sur l'Ident.		Profil biochimique : 0241010103500312										
Détails biochimiques												
2	APPA -	3	ADO -	4	PyrA -	5	IARL -	7	dCEL +	9	BGAL -	-
10	H2S -	11	BNAG -	12	AGL.Tp +	13	dGLU +	14	GGT -	15	OFF -	-
17	BGLU -	18	dMAL -	19	dMAN -	20	dMNE +	21	BXYL -	22	BAIap -	-
23	ProA -	26	LIP -	27	PLE -	29	TyrA +	31	URE -	32	dSOR -	-
33	SAC -	34	dTAG -	35	dTRE -	36	CIT +	37	MNT +	39	SKG -	-
40	ILATk +	41	AGLU -	42	SUCT -	43	NAGA -	44	AGAL -	45	PHOS -	-
46	GlyA -	47	ODC -	48	LDC -	53	IHISa +	56	CMT +	57	BGUR -	-
58	O129R +	59	GGAA -	61	IML.Ta -	62	ELLM -	64	ILATa +			

Client bioMérieux : 9743 CHU.TIZI OUZOU Unite de microbiologie Imprimé 22 octobre 2021 09:42:10 WAT  
 Rapport graphique

Nom du patient : ID du patient :  
 Lieu : ID labo : 3331AB/24 Médecin :  
 Numération : Numéro d'isolat : 1  
 Germe sélectionné : Acinetobacter baumannii complex

Source : Prélevé :

Commentaires :												
Informations sur l'identification		Heure de l'analyse : 5,80 heures	État : Final									
Germe sélectionné		99% Probabilité Acinetobacter baumannii complex										
Commentaires sur l'Ident.		Profil biochimique : 0201010103500312										
Détails biochimiques												
2	APPA -	3	ADO -	4	PyrA -	5	IARL -	7	dCEL +	9	BGAL -	-
10	H2S -	11	BNAG -	12	AGL.Tp -	13	dGLU +	14	GGT -	15	OFF -	-
17	BGLU -	18	dMAL -	19	dMAN -	20	dMNE +	21	BXYL -	22	BAIap -	-
23	ProA -	26	LIP -	27	PLE -	29	TyrA +	31	URE -	32	dSOR -	-
33	SAC -	34	dTAG -	35	dTRE -	36	CIT +	37	MNT +	39	SKG -	-
40	ILATk +	41	AGLU -	42	SUCT +	43	NAGA -	44	AGAL -	45	PHOS -	-
46	GlyA -	47	ODC -	48	LDC -	53	IHISa +	56	CMT +	57	BGUR -	-
58	O129R +	59	GGAA -	61	IML.Ta -	62	ELLM -	64	ILATa +			

### Annexe 02 : Dilutions des huiles essentielles

Dilution HE	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
<i>S. jordannii</i>	200	100	50	25	12,5	6,25	1,5625	1,5625	0,78125	0,390625
<i>S. officinalis</i>	225	112,5	56,25	28,125	14,0625	7,03125	3,515625	1,7578125	0,87890625	0,43945313

HE : huile essentielle SM : solution mère