

REPUBLIQUE ALGEREINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

Ministère de l'Enseignement supérieure de la recherche scientifique.

Université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou.



Faculté des sciences biologiques et agronomiques.

Département : Biochimie-Microbiologie.

Spécialité : Microbiologie appliquée.

Mémoire de fin de cycle

**Place du *Pseudomonas aeruginosa* dans
les infections pleuropulmonaires au CHU
de TIZI OUZOU unité Sidi Belloua**

Présenté par :

M^{lle} KHELLAF Sabrina

M^{lle} AMROUNI Faiza

Évalué le 09/07/2023 devant le jury composé de :

M ^{me} IRATNI AICHE Ghenima	MCA	UMMTO	Présidente
M ^f MOUALEK Idir	MCA	UMMTO	Examineur
M ^f MSELA Amine	MCB	UMMTO	Encadrant
M ^{me} SACI Sarah	Doctorante	UMMTO	Co-encadrante

Année universitaire : 2022-2023

Remerciement

*Avant tout, nous tenons à remercier **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'achever ce Modeste travail.*

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promoteur

Mr MSELA Amine

Pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, et son aide ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité, son assistance et son soutien indéfectible.

Veillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.

Nous remercions aussi

*Notre co-encadrente **SASSI Sarah** pour son aide et sa rigueur scientifique et qui nous a guidée et patiemment conseillée et qui nous a encouragée tout au long de l'élaboration de notre mémoire.*

*Nous prenons aussi un réel plaisir à remercier chaleureusement tout **Le personnel** qui nous a guidé et patiemment conseillé pour la réalisation de la grande partie de notre travail au sein du laboratoire de microbiologie au niveau de **CHU de TIZI OUZOU Hôpital Sidi Belloua.***

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury, qui nous fait l'honneur d'examiner et de juger notre travail :

M^{me} IRATNI AICHE Ghenima, présidente du jury ; **M^r MOUALEK Idir**, examinateur.

Enfin, nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Mon père,

Voilà déjà presque 2ans que tu as été arraché à notre affection, la vie a voulu que tu empreintes une nouvelle route. Ton départ a été un immense choc pour moi et a laissé un grand vide dans ma vie. En ce jour, papa, j'espère que tu apprécieras ce geste humble comme preuve de reconnaissance et de gratitude. Tu es et tu resteras toujours dans mon cœur. Que dieu le tout puissant puisse t'accueillir dans son vaste paradis INSHALLAH.

Ma mère,

Source inépuisable de tendresse, exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Quoi que je fasse ou que je te dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit très chère maman. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les difficultés de la vie. Puisse Dieu le tout puissant te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Mon frère Rabah,

Ce qu'il y a de mieux dans le fait d'avoir un frère, c'est qu'on peut toujours compter sur lui quand la vie devient difficile alors je te remercie pour tout l'amour que tu apportes dans ma vie, je t'aime énormément mon frère.

Ma deuxième famille, Ouerdia, Melissa, Kahina, Yasmine et enfin Meneouar et Zahir

Qu'importe ce que je fais, ce que je traverse, vous êtes toujours à mes côtés, je n'ai jamais rien à demander vous devancez toujours mes attentes. Votre amitié est une véritable chance et vous êtes le plus beau cadeau que Dieu puisse m'offrir, Merci d'être toujours là.

Herseyim,

Merci d'être aussi présent dans ma vie. "Quand j'aime une fois j'aime pour toujours".

Mon binôme,

Je te remercie pour ta disponibilité qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.



Sabrina

Que dieu vous prête bonheur et longue vie

(A la mémoire de mon grand-père)

*Avant tout, louange au Dieu le plus puissant pour ce qu'il nous a donné, comme santé,
volonté et surtout patience pour pouvoir achever ce modeste travail.*

C'est avec un énorme plaisir et un cœur ouvert je dédie cet humble travail

A

Mes très chers parents

*Pour leur amour, leurs encouragements et soutien sans faille
Je les remercie de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours
Aucune dédicace ne saurait exprimer, mon respect, mon amour
éternel et ma considération*

que Dieu leur prête bonheur et longue vie.

A mes très chères grandes- mères

*Tout d'abord, j'espère que Dieu vous bénira de sa grande miséricorde et fera votre
place au paradis .Je vous remercie de nous avoir élevés depuis l'enfance. Merci pour vos
prières qui m'ont mené à terminer ce parcours.*

A mes frères, M'hand, Said

A toute ma famille : oncles, tantes, cousins et cousines

A les petites, Meriem, Yasmine

A leur parents, Said, Kahina

Pour leur aide et encouragement sans cesse

A mes chères amies, Sarah, Louiza, Nora, Lydia, Cilia, Lina, Sabrina, Melissa, Ania

Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.

Vous m'avez offert ce qu'il y a de plus cher : l'amitié.

Je vous souhaite beaucoup de succès, de réussite et de bonheur.

A mon binôme Sabrina

pour les moments qu'on a passés ensemble pour

Commencer et achever ce modeste travail

*A toutes les personnes qui m'ont accompagnée pendant le long parcours de mes études, et à
ceux qui m'ont aidé de près ou de loin et qui ont participé à ma réussite*



Faiza

Introduction	1
Chapitre I : Anatomie et physiologie du système respiratoire	
I.1 Définition du système respiratoire	2
I.1.1 Les voies aériennes supérieures.....	2
I.1.1.1 La cavité nasale et orale	2
I.1.1.2 Le pharynx	4
I.1.1.3 Le larynx	4
I.1.2 Les voies aériennes inférieures.....	5
I.1.2.1 La trachée.....	6
I.1.2.2 Les bronches et bronchioles.....	6
I.1.2.3. Les alvéoles.....	7
I.1.2.4 Les poumons	8
I.1.3 Les organes de la mécanique respiratoire.....	10
I.1.3.1 La cage thoracique	10
Chapitre II : Les affections respiratoires à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
II.1 Les maladies respiratoires d'origine bactérienne.....	13
II.1.1 La pneumonie bactérienne	13
II.1.2 La bronchite bactérienne	14
II.1.3 La pleurésie	15
II.2 Les maladies respiratoires d'origine virale	16
II.3 Les affections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
II.3.1 Taxonomie.....	16
II.3.2 Habitat	17
II.3.3 Caractères bactériologiques.....	17
II.3.3.1 Caractères morphologiques	17
II.3.3.2 Caractères cultureux	17
II.3.3.3 Caractères biochimiques.....	18

Table des matières

II.3.4 Facteurs de virulence.....	19
II.3.5 Le diagnostic clinique	21
II.3.6 Le diagnostic de laboratoire	22
II.3.6.1 Le prélèvement	22
II.3.6.2 Isolement	22
II.3.6.3 Identification.....	22
II.3.6.4 L'antibiogramme	24
II.3.7 Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	24
II.3.7.1 Définition.....	24
II.3.7.2 Types de résistance	24
II.3.7.3 Mécanismes de résistance aux antibiotiques	25
 Chapitre 03 : Etude expérimentale	
III.1 Matériels et Méthodes	29
III.1.1 Problématique	29
III.1.2 Matériels et méthodes	29
III.1.2.1 Zone d'étude.....	29
III.1.2.2 Collecte des données (Fiche d'enquête).....	30
III.1.2.3 Les prélèvements.....	30
III.1.2.4 Au laboratoire.....	31
III.2 Résultats.....	44
III.2.1 Répartition globale.....	44
III.2.2 Répartition selon le sexe	45
III.2.3 Répartition selon l'âge	46
III.2.4 Répartition selon l'origine de la demande d'analyse.....	46
III.2.5 Répartition selon la nature du prélèvement	47
III.2.6 Résultat globales de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
III.2.7 Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon le sexe	47

Table des matières

III.2.8 Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'âge des patients	48
III.2.9 Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'origine de la demande d'analyse	48
III.2.10 Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon la nature du prélèvement	49
III.2.11 Résultats globales des antibiogrammes	49
III.2.11.1 Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des bêta- lactamines	50
III.2.11.2 Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des aminosides.	51
III.2.11.3 Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des quinolones.....	51
III.2.11.4 Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux autres antibiotiques	52
III.2.11.5 Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
III.2.12 Répartition de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
III.2.12.1 Répartition selon le sexe	54
III.2.12.2 Répartition selon l'âge	54
III.2.12.3 Répartition selon l'origine de la demande d'analyse	55
III.2.12.4 La répartition selon le type du prélèvement	55
III.3 Discussion.....	56
Conclusion	59
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Liste des figures

Figure I. 1: Anatomie de cavité nasale et orale.....	3
Figure I. 2: L'anatomie du pharynx.	4
Figure I. 3: Anatomie du larynx.....	5
Figure I. 4: Schéma représentatif de la trachée.....	6
Figure I. 5: Schéma représentatif des alvéoles et des bronchioles pulmonaires.....	8
Figure I. 6: Structure du poumon et la division des lobes.....	9
Figure I. 7: Localisation de la plèvre dans le poumon.....	10
Figure I. 8: L'anatomie de la cage thoracique.....	11
Figure I. 9: Schéma récapitulatif des organes du système respiratoire.....	12
Figure II. 1: Représentation schématique d'un épanchement pleural.	15
Figure II. 2: Aspect des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (A : Larges. B : Small. C : Muqueuses).....	18
Figure II. 3: Représentation générale des facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Figure III.1. 1: Hôpital Sidi Belloua de Tizi-Ouzou.....	29
Figure III.1. 2: Matériels utilisés au laboratoire.	32
Figure III.1. 3: Aspect hémorragique.	32
Figure III.1. 4: Aspect purulent et rosé.....	32
Figure III.1. 5: Aspect jaune clair.	32
Figure III.1. 6: Aspect salivaire.	33
Figure III.1. 7: Aspect visqueux et purulent.	33
Figure III.1. 8: Aspect Muqueux.	33
Figure III.1. 9: Aspect fluide et purulent.	33
Figure III.1. 10: Aspect citrin.	33
Figure III.1. 11: Aspect hématique.	33
Figure III.1. 12: Réalisation d'un état frais du liquide pleural observé à l'objectif×40.	34
Figure III.1. 13: Coloration au bleu de méthylène d'un prélèvement ECBC de mauvaise qualité observée à l'objectif x100.....	35
Figure III.1. 14: Coloration au bleu de méthylène d'un prélèvement ECBC de bonne qualité observée à l'objectif x100.....	35
Figure III.1. 15: Coloration MGG du liquide pleural observée à l'objectif x100.....	35
Figure III.1. 16: La mise en culture des bouillons d'enrichissement sur GSF et GSC.....	37

Liste des figures

Figure III.1. 17: Ensemencement par la technique des 04 quadrants.	38
Figure III.1. 18: Aspect macroscopique des colonies de <i>pseudomonas aeruginosa</i> sur hektoen.	38
Figure III.1. 19: Aspect macroscopique des colonies de <i>pseudomonas aeruginosa</i> sur GSF.	38
Figure III.1. 20: Aspect macroscopique des colonies de <i>pseudomonas aeruginosa</i> sur GSC.	39
Figure III.1. 21: Etat frais de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> observé à l'objectif x40.	39
Figure III.1. 22: Coloration de gram de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> observée à l'objectif x100.	40
Figure III.1. 23: Réaction positive de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'oxydase.	40
Figure III.1. 24: Réaction positive de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la catalase.	41
Figure III.1. 25: API 20E positive vs négative.	42
Figure III.1. 26: API 20 NE positive vs négative.	42
Figure III.1. 27: Galerie API 20E du genre <i>Pseudomonas Spp.</i>	42
Figure III.1. 28: Galerie API 20 NE de l'espèce <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Figure III.1. 29: Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> du liquide pleural.	43
Figure III.1. 30: Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> de l'ECBC.	43
Figure III.1. 31: Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> du DT.	43
Figure III.2 1: Répartition globale des souches bactériennes.	45
Figure III.2 2: Répartition globale selon le sexe.	45
Figure III.2 3: Répartition globale selon l'âge.	46
Figure III.2 4: Répartition globale selon l'origine de la demande d'analyse.	46
Figure III.2 5: Répartition globale selon la nature du prélèvement.	47
Figure III.2 6: Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon le sexe.	47
Figure III.2 7: Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'âge des patients.	48
Figure III.2 8: Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'origine de la demande d'analyse.	48
Figure III.2 9: Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon la nature du prélèvement.	49
Figure III.2 10: Répartition des résultats globaux des antibiogrammes.	50
Figure III.2 11: Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des bêta- lactamines.	50

Liste des figures

Figure III.2 12: Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des aminosides.	51
Figure III.2 13: Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux autres antibiotiques.....	52
Figure III.2 14: Répartition de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon le sexe.....	54
Figure III.2 15: Répartition de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'âge des patients.	54
Figure III.2 16: Répartition de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon l'origine de la demande d'analyse.	55
Figure III.2 17: Répartition de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon la nature du prélèvement.	55

Liste des tableaux

Tableau II. 1: Taxonomie de la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Ramos, J. L. 2011).....	16
Tableau II. 2: Caractéristiques biochimiques de l'espèce <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . (Ramos, J. L. 2011).....	19
Tableau II. 3: Principaux facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> : leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques (Khalifa et al., 2011).	20
Tableau II. 4: Les examens d'identification bactérienne et leurs principes (Zouikri et al., 2012).....	23
Tableau II. 5: Mécanismes de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> envers plusieurs antibiotiques (Berry., 2019) (Qin et al., 2022).	26
Tableau III.2. 1: Répartition globale des souches bactériennes.	44
Tableau III.2. 2: Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques appartenant à la famille des quinolones.....	51
Tableau III.2. 3: Profils de résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53

Liste des abréviations

- AAC** : les acétyltransférases
- ADH** : l'arginine-dihydrolase
- ADN** : Acide désoxyribonucléase
- AET** : aspiration endo-trachéale
- ANT** : nucléotidyltransférases
- APH** : aminoglycoside phosphotransferase
- API** : analytical profile index
- ATM** : Aztréonam
- BBP** : brossage bronchique protégé
- BGN** : Bactérie Gram Négative
- BHIB** : Brain Heart Infusion Broth
- BK** : Bacille de Koch
- BLSE** : β -lactamases à spectre étendu
- BPCO** : Bronchopneumopathie Chronique Obstructive
- CAZ** : Ceftazidime
- DO** : Doxycycline
- DT** : Drain thoracique
- ECBC** : Examen Cytobactériologique des crachats
- EMB** : Gélose Eosine au Bleu de Méthylène
- FOS** : Fosfomycine
- GN** : Gentamicine
- GSC** : Gélose sang cuit
- GSF** : Gélose sang frais
- I** : Intermédiaire
- ICE** : Les éléments intégratifs conjugatifs
- IMP** : Imipenème
- IR** : Inversées Répétées
- IS** : Les Séquences d'insertions
- L'AAC** : l'aminoglycoside acétyltransférase
- L'APH** : l'aminoglycoside phosphotransférase
- L'ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- L'ANT** : l'aminoglycoside nucléotide transférase
- LBA** : lavage broncho-alvéolaire

Liste des abréviations

- LP** : Liquide pleural
- LPS** : Lipopolysaccharide
- MDR** : Multidrug Resistance Proteins
- MGG** : Coloration de may grunwald et giemsa
- MLS** : macrolides-lincosamides-streptogramines
- MPOC** : Maladie Pulmonaire Obstructive Chronique
- NET** : Nétilmicine
- PCR** : Polymerase Chain Reaction
- PI** : Acide pipémidique
- PIP** : Pipéracilline
- PLPs** : Proteolipid Protein
- PNN** : Polynucléaires neutrophiles
- PRL** : Pipéracilline
- R** : Résistant
- RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism
- RND** : Résistance-Nodulation-Division
- S** : Sensible
- SARS-COV** : Coronavirus
- SRAS** : Syndrome Respiratoire Aigüe
- SS** : Gélose Salmonella Shigella
- SXT** : Triméthoprime/sulfaméthoxazole
- TCC** : Ticarciline+ acide clavulanique
- TDA** : Tryptophane désaminase
- TIC** : Ticarciline
- TOB** : Tobramycine
- VIM** : Verona integron-encoded metallo- β -lactamase
- VRS** : Virus Respiratoire Syncytial

INTRODUCTION

Introduction

Les affections respiratoires sont des maladies qui affectent le système respiratoire. Parmi les nombreuses de ces affections, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie souvent associée à des infections pulmonaires sévères et chroniques. Ce dernier est un pathogène opportuniste qui peut causer des infections chez les individus immunodéprimés, les patients atteints de mucoviscidose, les personnes sous ventilation mécanique ou ayant des dispositifs médicaux invasifs (**Benabid., 2009**).

Il est impliqué dans les pneumopathies chez les malades sous respirateur, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéo-articulaires sur matériel, des infections respiratoires (les infections les plus courantes sont la pneumonie et la bronchite) (**Hamze et al., 2004**).

Sa pathogénicité est conférée par l'interaction avec certaines structures de surface et par la sécrétion de nombreux facteurs de virulence, ce qui explique que le bacille pyocyanique est considéré de nos jours comme un sérieux problème de santé publique et il est responsable de 10 à 20% des infections nosocomiales (**Guilherme., 2013**).

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* fait référence à sa capacité à résister aux effets des agents antimicrobiens, tels que les antibiotiques. Ce germe est connu pour sa capacité intrinsèque à développer des mécanismes de résistance, ce qui en fait une préoccupation majeure dans le domaine de la santé (**Kipnis., 2006**).

Vu la multi résistance, la pathogénicité et la nocivité de *pseudomonas aeruginosa* rend le suivi de ce dernier en milieu hospitalier plus important en vue de diminuer sa propagation, de minimiser la fréquence des souches multi-résistantes et donc de baisser le coût du traitement pour une antibiothérapie adéquate afin d'avoir la meilleure prise en charge du malade souffrant, C'est dans ce but que notre travail a été réalisé ou on s'est fixé plusieurs objectifs avec lesquels nous avons recherché et caractérisé les souches de *pseudomonas aeruginosa* à partir des différents prélèvements respiratoires (crachat, liquide pleural, drain thoracique) provenant des malades hospitalisés ou externes, en vue de l'identification de ces souches par son profil biochimique (galerie API) et déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques ainsi que quelques caractéristiques et facteurs épidémiologiques.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Hôpital CHU sidi Belloua de la ville de Tizi Ouzou.

Chapitre I

Anatomie et physiologie

Du système respiratoire

On ne peut pas vivre sans l'oxygène de l'air ambiant. Tous les organes, tissus et cellules de notre corps ont besoin d'oxygène afin de pouvoir « travailler ». Cet oxygène sert à la « combustion » des substances nutritives libérant « l'énergie » nécessaire pour assurer différentes tâches. Quand les sucres sont brûlés, un déchet formé par du gaz carbonique (CO₂) doit être éliminé. Pour que l'air ambiant et donc l'oxygène parvienne à notre corps, et pour que le gaz carbonique en soit éliminé, nous disposons du système respiratoire **(Brinkman., 2020)**.

I.1 Définition du système respiratoire

L'appareil respiratoire est connu sous le nom de système respiratoire. La respiration dans le langage médical est appelée la ventilation pulmonaire qui est un mécanisme permanent, involontaire, inconscient et rythmique, il s'agit du renouvellement de l'air contenu dans les poumons par l'action des muscles respiratoires. Il est composé d'une série d'organes chargés d'absorber l'oxygène, d'alimenter le corps en fournissant de l'oxygène au sang puis aux cellules de l'organisme, et d'expulser du corps les déchets gazeux, constitués principalement par le dioxyde de carbone. Il désigne l'ensemble des organes d'un être vivant qui ont pour but d'assurer la respiration, c'est-à-dire tous les éléments du corps qui participent à l'échange gazeux entre l'environnement et l'organisme **(Kulpinski., 2016)**.

L'appareil respiratoire se compose anatomiquement de trois parties.

I.1.1 Les voies aériennes supérieures

Les voies respiratoires supérieures sont situées à l'extérieur du thorax (extra-thoracique) et se composent de la cavité nasale, la cavité orale, du pharynx et du larynx **(Benlahouès., 2013)**.

I.1.1.1 La cavité nasale et orale

➤ Anatomie

- **La cavité nasale** est constituée de deux cavités séparées sagittalement par une fine cloison nasale. Elle est située au-dessus de la cavité buccale, sous la cavité crânienne et dans l'orbite. Le squelette osseux de la cavité nasale est divisé en quatre parois :
 - La paroi supérieure (voûte).
 - La paroi inférieure (plancher).
 - La paroi médiale.
 - La paroi latérale.

Elle est aussi composée des : orifices (orifice antérieur « narines » qui permet à l'air d'entrer et de sortir, et postérieur « choanes » fait communiquer la fosse nasale avec le pharynx) et un revêtement cutanéomuqueux des fosses nasales. Et la présence des sinus paranasaux ; frontaux, maxillaires, sphénoïdaux et éthmoïdaux (Toumi *et al.*, 2015) (Figure I.1).

- **La cavité orale** est située à la face inférieure de la face entre la cavité nasale, sous les orbites, et les fosses infra-temporales situées dans le cou. Elle est tapissée à l'intérieur par une muqueuse protectrice. Elle s'ouvre par les lèvres. Elle est limitée latéralement par les joues, en haut par le toit de la bouche qui est formé du palais osseux et du palais mou qui mènent à l'arrière de la langue et aux amygdales. En bas, elle est limitée par le plancher de la bouche sur lequel repose la langue. La bouche renferme les mâchoires inférieures et supérieures, sur lesquelles prennent place les gencives et les dents (Toumi *et al.*, 2015) (Figure I.1).

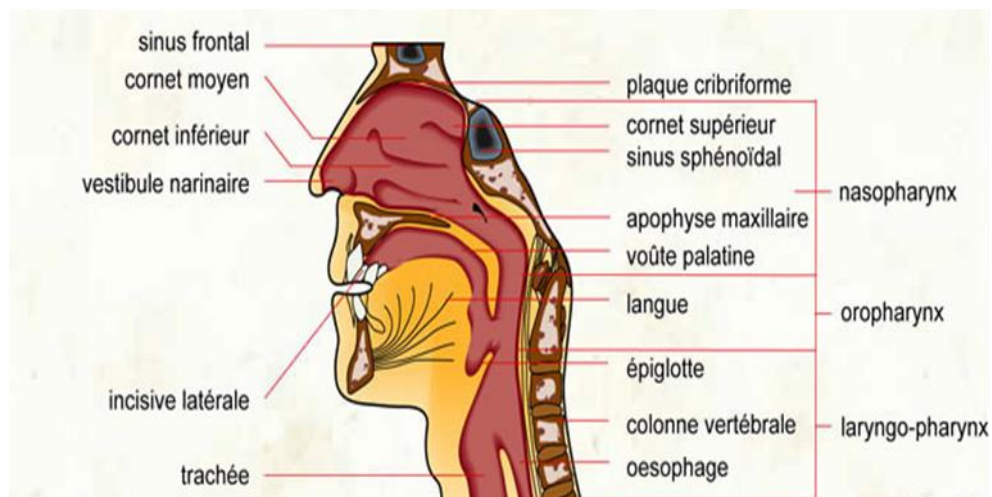


Figure I. 1: Anatomie de cavité nasale et orale (Bernard. 2020).

➤ Physiologie

- La cavité nasale communique avec le monde extérieur par les ouvertures des narines. Ils refluent à travers la cavité nasale postérieure dans le nasopharynx. La cavité nasale à double fonction : respiratoire et olfactive (Humidifier et réchauffer l'air inspiré) (Sobiesk *et al.*, 2019).
- La cavité orale est la porte d'entrée des aliments par laquelle on se nourrit, son rôle premier est de participer à l'alimentation et à la digestion mais aussi à respirer et à parler (création de sons) (Briand., 2017).

I.1.1.2 Le pharynx**➤ Anatomie**

Le pharynx est un carrefour aérodigestif entre les voies aériennes et les voies digestives, c'est une transition en forme d'entonnoir de 13 cm de long. Il est situé entre le nez et la trachée. Il est sous forme d'une cavité conique aplatie d'avant en arrière, divisée en deux parties par la voile du palais (Fekir., 2019) (Figure I.2).

Le pharynx comprend :

- **Rhino-pharynx**
- **L'oropharynx**
- **Laryngopharynx**

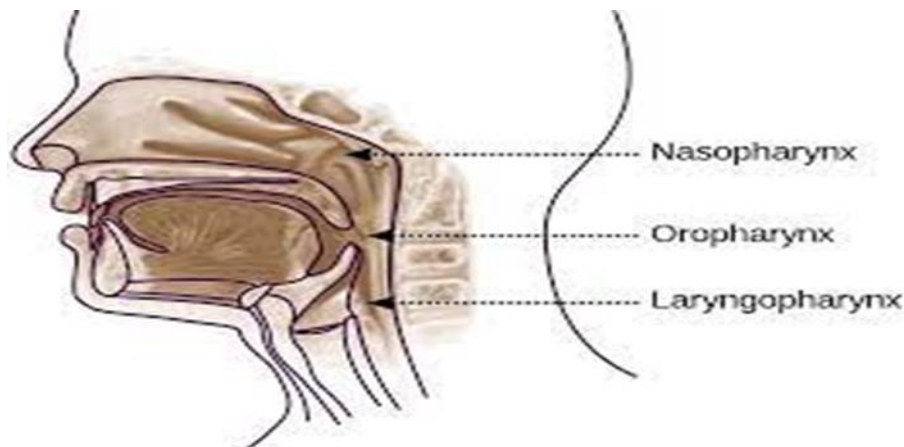


Figure I. 2: L'anatomie du pharynx (Borsi., 2015).

➤ Physiologie

Il travaille en étroite collaboration avec le larynx pour contrôler l'ouverture et la fermeture des voies respiratoires, de la trachée et des voies gastro-intestinales œsophage.

Concernant son rôle au niveau digestif est la déglutition ; qui permet le transport du bol alimentaire de la bouche vers l'estomac, il est donc important que cette région ait un contrôle précis pour éviter que les aliments aillent vers les voies aériennes (fausses routes) (Menche., 2023).

I.1.1.3 Le larynx**➤ Anatomie**

Le larynx correspond à la partie antérieure élargie et différenciée de la trachée, à son débouché dans la cavité bucco-pharyngée. Il est soutenu comme la trachée par des pièces squelettiques généralement cartilagineuses qui proviennent du troisième arc branchial ou des

deuxièmes et troisièmes arcs branchiaux. Sa musculature provient de la transformation des muscles striés viscéraux liés à ces mêmes arcs (**Beaumont et al., 1995**).

Le larynx est fait de trois cartilages pairs : les cartilages aryténoïdes enserrant l'orifice de la glotte, les cartilages aryténoïdes cricoïdes qui proviennent de la troisième paire d'arcs bronchiaux et les cartilages thyroïdes qui proviennent des deuxièmes et troisièmes arcs bronchiaux (**Beaumont et al., 1995**) (Figure I.3).

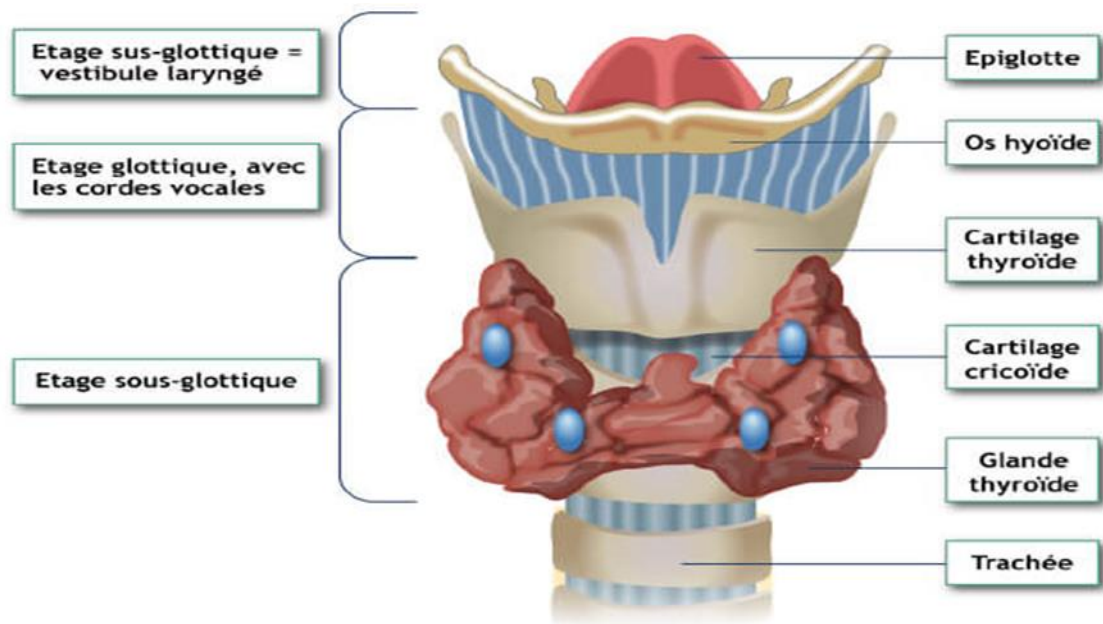


Figure I. 3: Anatomie du larynx (**Charline., 2020**).

➤ Physiologie

Le larynx bloque l'accès aux voies respiratoires lorsque les aliments traversent le tube digestif. Il assure la déglutition ; le larynx se déplace vers le haut, l'épiglotte s'abaisse et la glotte se ferme assurant ainsi l'étanchéité des poumons. Et aussi la phonation ; l'air expiré provoque la vibration des cordes vocales, le débit de l'air expiré détermine la hauteur du son, la cavité buccale sert à la prononciation (**Menche., 2023**).

I.1.2 Les voies aériennes inférieures

Les voies respiratoires inférieures sont constituées de la trachée, des bronches, des bronchioles et des alvéoles qui composent les poumons. Ces structures reçoivent l'air des voies respiratoires supérieures, absorbent l'oxygène et libèrent du dioxyde de carbone en retour. D'autres structures telles que la cage thoracique et le diaphragme protègent et soutiennent ces fonctions (**Brinkman et al., 2020**).

I.1.2.1 La trachée

➤ Anatomie

La trachée est un tube cylindrique composé de structures cartilagineuses, de fibres et de fibres musculaires qui prolongent le larynx et transporte l'air vers les bronches et mesure environ 20 cm de longueur. Elle est aplatie sur sa face postérieure (**Fekir., 2019**).

Elle est composée de deux parties : la face postérieure où la trachée est aplatie et la face antérieure qui se termine en donnant naissance à la hauteur de la 6^{ème} vertèbre dorsale aux bronches souches droite et gauche séparées par l'éperon trachéal ou caréna (**Larboui., 1977**) (Figure I.4).

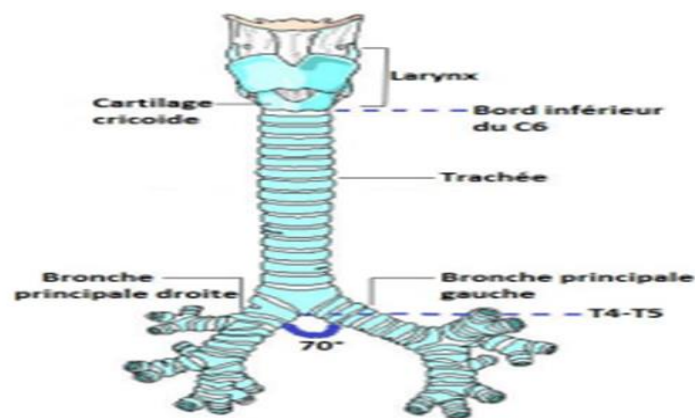


Figure I. 4: Schéma représentatif de la trachée (**Bensalem., 2020**).

➤ Physiologie

Elle assure le passage de l'air durant tout le cycle respiratoire, permettant ainsi l'hématose et la phonation ; c'est la fonction aérienne de la trachée, placée sous le contrôle du système nerveux parasympathique. (**Menche., 2023**).

La trachée présente aussi une fonction de drainage liée à son appareil mucociliaire autorisant l'élimination des particules inhalées vers le pharynx (**Menche., 2023**).

I.1.2.2 Les bronches et bronchioles

➤ Anatomie

- **Les bronches** sont des conduites intégrées au système respiratoire de l'organisme elles contiennent des muscles lisses et du cartilage. Les deux bronches principales (bronches souches) naissent à la terminaison de la trachée et se jettent dans chaque poumon. Et sont :

- ✓ La bronche souche droite : Elle donne naissance à ; la bronche lobaire supérieure droite, la bronche lobaire moyenne et la bronche lobaire inférieure.
- ✓ La bronche souche gauche : Elle donne naissance à la bronche lobaire supérieure gauche sur sa face latérale externe, la bronche lobaire inférieure gauche qui donne naissance à la bronche de Nelson sur sa face postérieure et au bouquet terminal (**Larboui., 1977**).

Les bronches lobaires qui se divisent en bronches segmentaires, puis en bronches sous segmentaires..., la division va se poursuivre jusqu'aux bronchioles terminales et canaux alvéolaires au sein du lobule pulmonaire ce qui assurent le relais au sein des poumons (**Larboui., 1977**).

- **Les bronchioles** sont les premières branches des voies respiratoires qui contiennent que des muscles lisses sans cartilage. Elles sont des prolongements des bronches et elles ont moins d'un millimètre de diamètre (**Larboui., 1977**).

➤ **Physiologie**

L'air inspiré suit le trajet de la trachée et des bronches, afin d'assurer les échanges gazeux avec la circulation sanguine et permettre ainsi l'oxygénation des tissus. Ces bronches transportent l'air vers la poitrine, qui est protégée par le sternum, ou vers les lobes pulmonaires, qui sont contenus dans les cavités pulmonaires (**Bessaguet et al., 2021**).

Les bronchioles permettent l'accès de l'air aux alvéoles pulmonaires (**Bessaguet et al., 2021**).

I.1.2.3. Les alvéoles

➤ **Anatomie**

Les poumons des humains contiennent entre 300 à 400 millions d'alvéoles de 0,3 mm de diamètre qui constituent la plus grande partie de la masse pulmonaire. Elles sont humidifiées à l'intérieur par une mince couche d'un liquide (film liquidien) qui contribue à son élasticité, mais aussi empêche que l'alvéole ne se rétracte complètement. La paroi de chaque alvéole est formée d'une couche de cellules très aplaties et entourée d'un réseau très dense de petits vaisseaux sanguins, appelés capillaires pulmonaires. Ces alvéoles pulmonaires forment de minuscules sacs alvéolaires qui se gonflent d'air à l'inspiration et se vident à l'expiration (**Flandrois et al., 1976**) (Figure I.5).

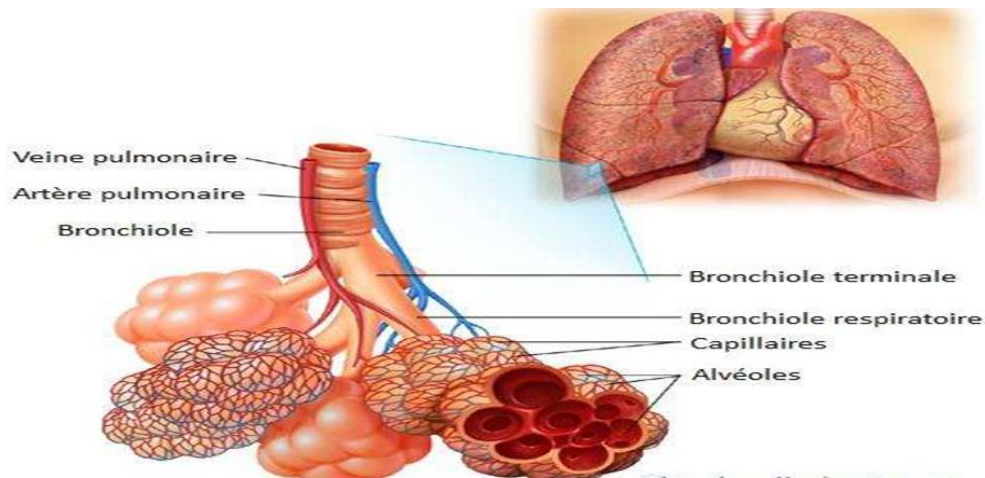


Figure I. 5: Schéma représentatif des alvéoles et des bronchioles pulmonaires (Blausen gallery., 2014).

➤ Physiologie

Déroulement des échanges gazeux avec le sang se produit entre les millions d'alvéoles pulmonaires et les capillaires qui les enveloppent, l'oxygène inhalé passe des alvéoles au sang des capillaires, et le dioxyde de carbone du sang des capillaires à l'air dans les alvéoles (Flandrois *et al.*, 1976).

Le revêtement et la membrane alvéolaires de la paroi ont pour fonction de sécréter le surfactant, substance très tensio-active, qui se dépose en un film tenu dans l'interphase air alvéolaire-paroi capillaire ; c'est le film liquidien joue un rôle important dans les phénomènes mécaniques de la ventilation pulmonaire en contribuant de façon très importante à l'élasticité du parenchyme pulmonaire et au maintien de la béance alvéolaire. On lui reconnaît un rôle mécanique d'épuration, un rôle d'activation de l'action des macrophages, et aussi une action bactéricide (Flandrois *et al.*, 1976).

I.1.2.4 Les poumons

➤ Anatomie

Contenue dans la cage thoracique, sa face inférieure est entourée par le diaphragme. Il ressemble à deux sacs spongieux mobiles suspendus et fixés au niveau du hile, et ils sont entourés par la plèvre (Taha., 2022).

Les lobes du poumon sont entourés par le septum élastique de la conjonctive, le prolongement interne de la plèvre viscérale (Taha., 2022) (Figure I.6).

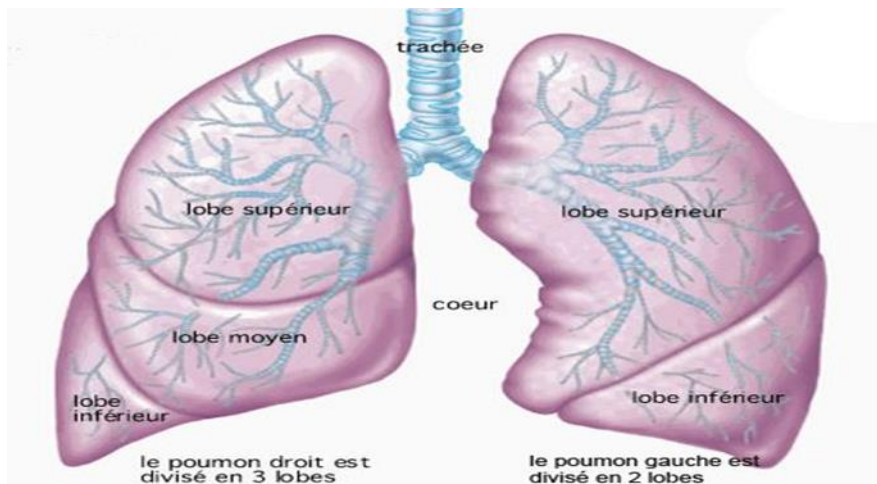


Figure I. 6: Structure du poumon et la division des lobes (Menche., 2023).

➤ Physiologie

Les principales fonctions des poumons sont de transférer dans le sang l'oxygène présent dans l'air et d'évacuer dans l'air le dioxyde de carbone présent dans le sang, grâce aux alvéoles qui absorbent l'oxygène avant de l'envoyer dans le sang, qui le fait circuler dans tout le corps et Le dioxyde de carbone, qui est un déchet des cellules du corps, passe du sang aux alvéoles avant d'être expiré (Menche., 2023).

Les poumons aident également à protéger le corps des substances nuisibles présentes dans l'air, comme la fumée, la pollution, les bactéries et les virus. Ils produisent un liquide épais et visqueux appelé mucus qui peut retenir et partiellement détruire ces substances provenant de l'air (Menche., 2023).

I.1.2.4.1 La plèvre

➤ Anatomie

La plèvre est la membrane entre les poumons et la paroi thoracique. Elle se compose de deux couches : une couche appelée plèvre viscérale ou plèvre pulmonaire recouvre l'extérieur des poumons. Une couche appelée plèvre pariétale recouvre la paroi interne de la poitrine, qui est divisée en trois parties continues : la plèvre costale, la plèvre diaphragmatique et la plèvre médiastinale (Taha., 2022).

Les deux feuillets sont séparés l'un de l'autre par la cavité pleurale où se trouve une petite quantité de liquide qui lubrifie les feuilles et facilite le glissement lors des mouvements respiratoires. La zone qui contient le liquide est appelée l'espace pleural (Richard *et al.*, 2021) (Figure I.7).

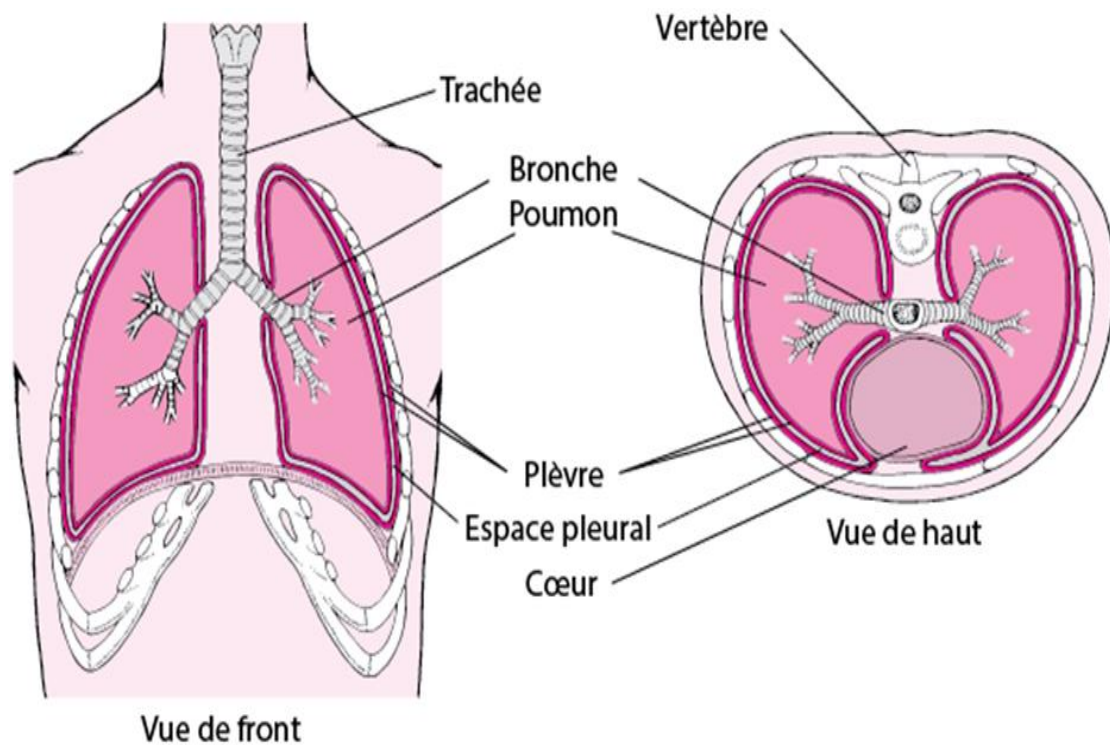


Figure I. 7: Localisation de la plèvre dans le poumon (Richard et al., 2021).

➤ Physiologie

La plèvre protège les poumons en absorbant les chocs et en bloquant le passage de certains virus et bactéries. S'il y a du liquide dans cette cavité, on parle de pleurésie (épanchement pleural). S'il y a de l'air, c'est un pneumothorax (Taha., 2022).

Les deux feuillets de la plèvre solidarisent les poumons et la paroi thoracique. La plèvre permet une expansion maximum des lobes pulmonaires grâce au glissement des deux feuillets, rendu possible par un film de liquide pleural lubrifiant (Taha., 2022).

I.1.3 Les organes de la mécanique respiratoire

I.1.3.1 La cage thoracique

➤ Anatomie

La cage thoracique est une structure ostéo-cartilagineuse, située au niveau du thorax, qui participe notamment à la protection à des organes vitaux (Diawara et al., 2022).

Elle est formée par plusieurs éléments :

- Le sternum
- Le rachis thoracique
- Les côtes

Les côtes commencent du rachis et sont reliées au sternum par des cartilages costaux, à l'exception des deux dernières côtes d'en bas c'est les côtes flottantes qui ne s'attachent pas au sternum. Ces liaisons permettent de donner une structure en cage (**Diawara et al., 2022**).

Onze espaces intercostaux séparent latéralement les douze côtes. Ces espaces sont constitués de muscles, d'artères, de veines et de nerfs. Et la présence d'une cavité thoracique qui contient divers organes vitaux, tels que le cœur et les poumons. Le fond de la cavité est fermé par un diaphragme (**Diawara et al., 2022**) (Figure I.8).

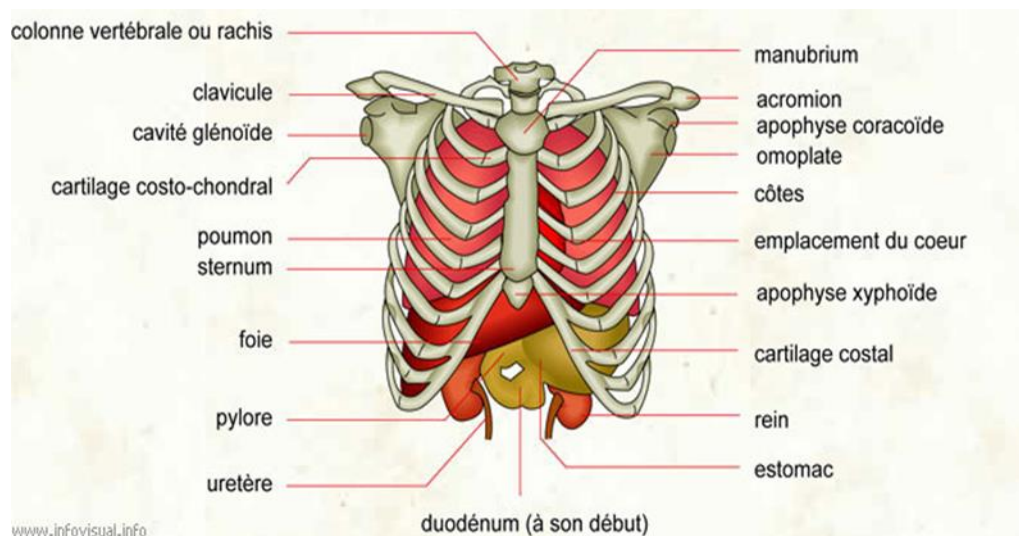


Figure I. 8: L'anatomie de la cage thoracique (**Frank et al., 2007**).

➤ Physiologie

- **Protection des organes internes** ; en raison de sa forme et de sa structure, la cage thoracique protège les organes vitaux tels que le cœur et les poumons, ainsi que certains organes abdominaux.
- **La mobilité** ; sa nature partiellement cartilagineuse lui confère une structure souple qui peut suivre les mouvements de la colonne vertébrale.
- **La respiration** ; la structure souple de la cage et ses différentes articulations offrent une grande liberté de mouvement et participent au mécanisme respiratoire. Il existe également divers muscles respiratoires dans la poitrine (**Diawara et al., 2022**).

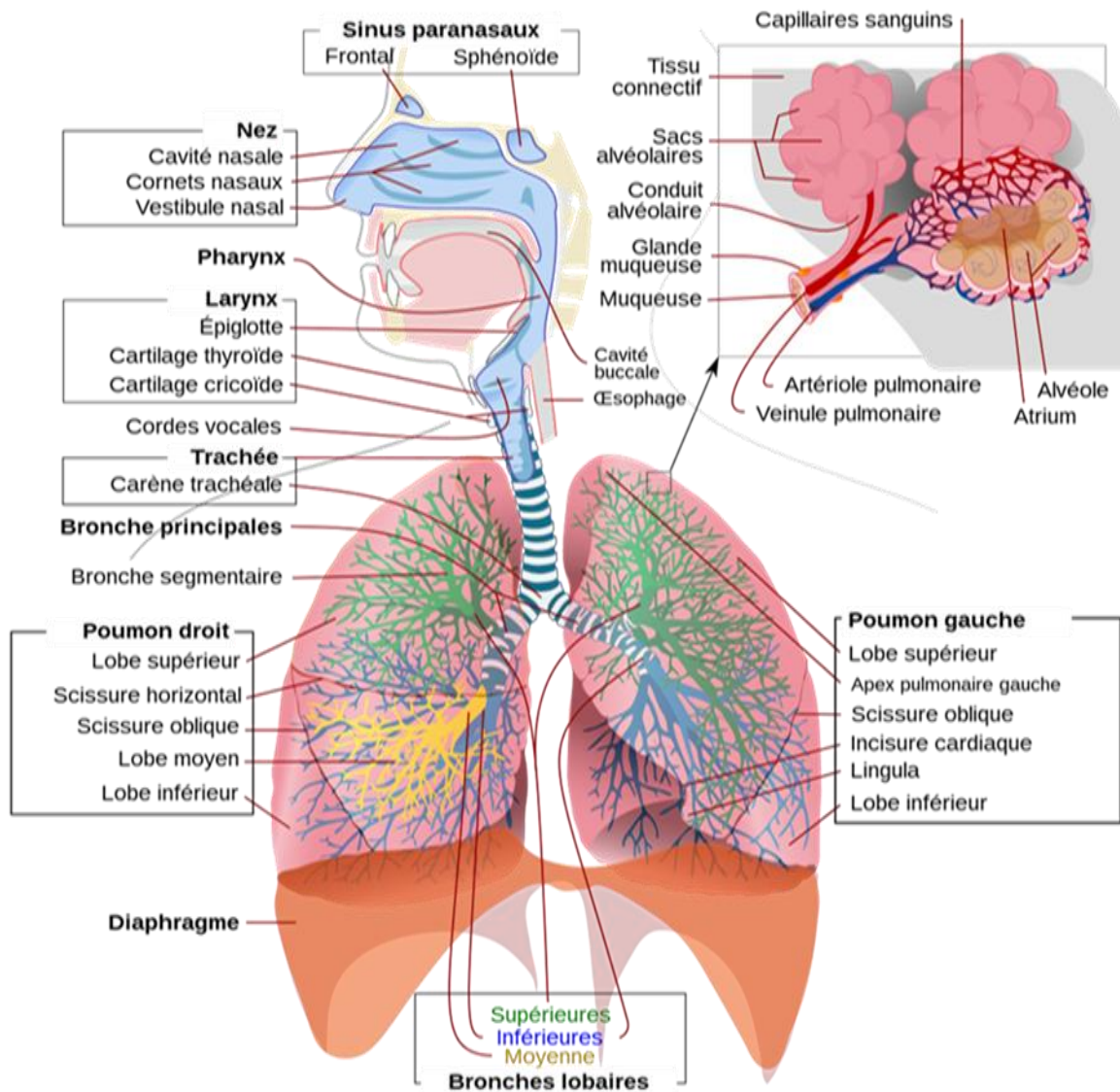


Figure I. 9: Schéma récapitulatif des organes du système respiratoire (Menche., 2023).

Chapitre II

*Les affections respiratoires
à *Pseudomonas aeruginosa**

Chapitre II Les affections respiratoires à *pseudomonas aeruginosa*

Aujourd'hui, les maladies respiratoires représentent 12 % des décès et les infections respiratoires sont la première cause d'absentéisme chez les jeunes adultes (**Ouimet., 2022**).

Les maladies pulmonaires sont des maladies inflammatoires qui peuvent toucher un grand nombre d'organes en particulier le poumon. L'atteinte pulmonaire est le plus souvent sous-estimée ; alors qu'elle constitue un facteur de mauvais pronostic. Ces maladies peuvent être causées par une variété de facteurs tels que la pollution de l'air, le tabagisme, les infections respiratoires, les allergies et l'exposition à des substances toxiques. Elles peuvent également avoir des effets graves sur la qualité de vie des patients, notamment en limitant leur capacité à effectuer des activités quotidiennes et en provoquant des douleurs et des inconforts (**Kouassi et al., 2016**).

Ces maladies qui touchent les voies respiratoires peuvent être de plusieurs origines ; soit des infections virales ou des infections due à des bactéries ou bien physiologiques.

La pneumologie désigne la spécialité médicale qui traite les maladies des poumons ainsi que les maladies respiratoires (**Ouimet., 2022**).

II.1 Les maladies respiratoires d'origine bactérienne

II.1.1 La pneumonie bactérienne

Le terme « pneumonie » correspond aux pneumopathies d'origine infectieuse, qui peut être causée par des agents infectieux comme les bactéries et les plus courants sont *Streptococcus pneumoniae*, (Mais elle peut être causée aussi par des virus et des champignons).

La pneumonie est la forme la plus grave des infections aiguës des voies respiratoire inférieures, l'infection bactérienne résulte de la première pénétration de pathogène qui sont des bactéries extracellulaires comme *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* et des bacilles intracellulaires comme *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Clamidia pneumoniae* et *pseudomonas aeruginosa*. La colonisation de ces bactéries diminue l'absorption d'oxygène et gêne la respiration. Les bactéries sont la cause la plus fréquente de pneumonie chez les adultes (**Kouira et al., 2020**).

La pneumonie bactérienne affecte souvent un seul lobe du poumon et la condition appelée pneumonie lobaire.

- Chez les patients hospitalisés ou qui ont une ventilation assistée ou qui ont été intubés pour une intervention chirurgicale sont particulièrement à risque de développer une pneumonie nosocomiale, car les tubes peuvent servir de voie d'entrée pour les bactéries. Les patients

Chapitre II Les affections respiratoires à *pseudomonas aeruginosa*

ayant un système immunitaire affaibli, tels que les personnes âgées ou les patients atteints de maladies chroniques(l'asthme de l'adulte , la bronchopneumopathie chronique obstructive « BPCO » , la mucoviscidose, etc.), sont également plus à risque accru de pneumonie et elle est souvent causée par des bactéries résistantes aux antibiotiques, qui peuvent se propager facilement dans les environnements hospitaliers tels que *pseudomonas aeruginosa* (**Haddadi et al., 2013**).

En dehors d'une hospitalisation ou dans les 48 heures suivant une entrée à l'hôpital ou en clinique on parle d'une pneumonie aiguë communautaire.

La pneumonie bactérienne peut être contractée par une personne en inhalant des gouttelettes respiratoires contaminées, en touchant une surface contaminée et en touchant ensuite son visage, ou en étant exposée à une personne infectée.

Lorsque les bactéries pénètrent dans les alvéoles pulmonaires, elles provoquent une inflammation. Ces alvéoles se remplissent de pus et de liquide, provoquant ainsi des symptômes de pneumonie (**Berdyev et al., 2011**).

Les symptômes de la pneumonie bactérienne peuvent varier d'une personne à l'autre, et voici quelques symptômes courants : (**Berkane., 2020**).

- Fièvre élevée (généralement supérieure à 38°C).
- Frissons et sueurs nocturnes.
- Toux sèche ou productive, avec expectoration de mucus épais et verdâtre ou jaunâtre.
- Essoufflement ou difficulté à respirer.
- Douleur thoracique, qui peut être ressentie comme une douleur vive ou une sensation de pression.
- Fatigue générale et faiblesse.
- Perte d'appétit et perte de poids.

II.1.2 La bronchite bactérienne

La bronchite bactérienne est une inflammation des bronches, qui sont les conduits d'air qui mènent aux poumons elle est due à une infection bactérienne qui survient majoritairement dans trois circonstances :

Les bactéries les plus couramment impliquées dans la bronchite bactérienne sont *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis* (**Demoré., 2018**).

Chapitre II Les affections respiratoires à *pseudomonas aeruginosa*

Cette bronchite peut se transmettre de plusieurs façons, notamment par contact direct avec une personne infectée, contact avec des objets contaminés car les bactéries responsables de la bronchite bactérienne peuvent survivre sur des surfaces telles que des poignées de porte ou des téléphones portables et inhalation d'air contaminé car ces bactéries peuvent également être présentes dans l'air (Demoré., 2018).

II.1.3 La pleurésie

Les personnes atteintes de ces infections respiratoires telles que la pneumonie, la tuberculose, la grippe, la bronchite peuvent développer une pleurésie, comme elle peut être provoquer par d'autres facteurs telles que les blessures thoraciques, affections pulmonaires sous-jacentes telles que l'emphysème, la fibrose pulmonaire, le cancer du poumon ou la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC), maladies auto-immunes, maladies systémiques, telles que l'insuffisance rénale, l'insuffisance cardiaque congestive et l'insuffisance hépatique, chirurgie thoracique.

Elle se définit comme étant une inflammation aigüe ou chronique de la plèvre (la membrane qui recouvre les poumons et tapisse l'intérieur de la cage thoracique), qui se traduit par la présence d'une quantité anormale de liquide dans la cavité pleurale, appelée aussi épanchement pleural (Baculard., 1999).

Il existe plusieurs formes de pleurésies :

- La pleurésie purulente, également appelée empyème pleural.
- La pleurésie chronique, quant à elle, est une forme de pleurésie qui persiste pendant plusieurs mois ou plus (Ferre *et al.*, 2011).

Les symptômes de la pleurésie peuvent varier en fonction de la gravité de l'inflammation et de la cause sous-jacente de la maladie (La charité., 2018) (Figure II.1)

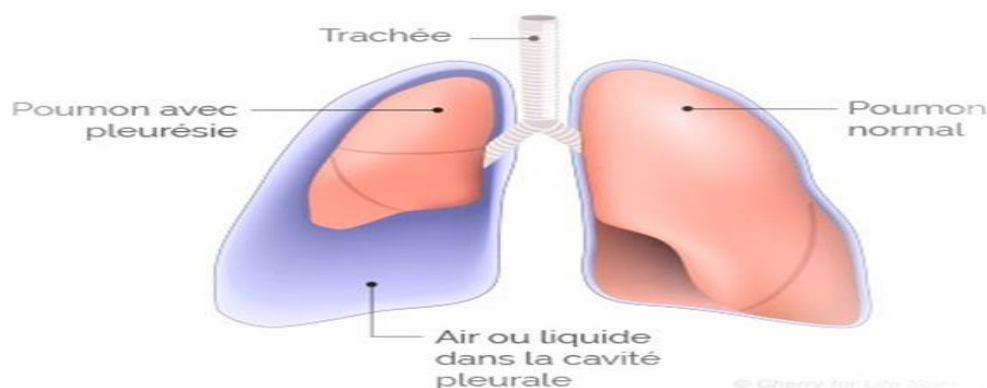


Figure II. 1: Représentation schématique d'un épanchement pleural (Charline., 2018).

II.2 Les maladies respiratoires d'origine virale

Les infections virales affectent souvent les voies respiratoires supérieures ou inférieures. Les infections respiratoires peuvent être classées selon le virus causal (la grippe), mais plus souvent selon le syndrome clinique (rhume, bronchiolite, zona, pneumonie). Certains agents pathogènes provoquent des manifestations cliniques caractéristiques (Le rhinovirus, qui cause habituellement le rhume, ou le virus respiratoire syncytial [VRS], qui cause habituellement la bronchiolite (Mcintosh *et al.*, 2019).

II.3 Les affections à *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est le genre type de la famille des *Pseudomonaceae* comprend une soixantaine d'espèces pouvant répondre à la définition suivante : bacille à gram négatif, aérobie strict, non exigeant ; facilement cultivable, mobile par ciliature polaire, présentant une réaction à l'oxydase positif, incapable de fermenter le glucose, pouvant produire des pigments (Weihui *et al.*, 2015).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie omniprésente dans l'environnement qui provoque des infections humaines opportunistes. Un grand nombre de voies métaboliques et de gènes régulateurs rendent cette bactérie hautement adaptative à diverses conditions de croissance. Sa polyvalence nutritionnelle, son grand nombre de facteurs de virulence et sa résistance élevée aux antibiotiques rendent cette bactérie extrêmement difficile à éradiquer des individus infectés. Et lui permettant de s'adapter à des environnements hostiles (Gellen dautremer., 2010).

II.3.1 Taxonomie

Tableau II. 1: Taxonomie de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (Ramos, J. L. 2011).

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Pseudomonadota</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>

Espèce

Pseudomonas aeruginosa

II.3.2 Habitat

Pseudomonas aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas* ou apparenté. Ces bactéries ont des exigences nutritives peu importantes et sont capables de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments et sur les végétaux) et particulièrement en milieu humide (Gellen dautremer., 2010).

En milieu hospitalier *Pseudomonas aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade (peut contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides). Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation (Archambaud *et al.*, 2008).

II.3.3 Caractères bactériologiques

II.3.3.1 Caractères morphologiques

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif, fin de 1,5 à 3 µm de long sur 0,5 à 0,8 µm de large. Il est dépourvu de spores et de capsules et il est mobile par une ciliature polaire, Au contraste de phase, le déplacement des bacilles s'effectue plutôt en ligne droite (Darghout *et al.* 2016).

II.3.3.2 Caractères cultureux

Le bacille pyocyanique est une bactérie aux besoins très limités. Croissant sur des milieux synthétiques simples, elle pousse facilement en 24 heures à 37°C. Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum de 37°C. Par contre, elle supporte de moindres variations de pH (6.5 à 7.5) avec un pH optimal de 7.2.

Les colonies poussent en 24 heures et sont plates, à bord irrégulier prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie aérobic stricte mais capable d'utiliser les nitrates en conditions anaérobies. Elle est caractérisée par une odeur florale (odeur de seringa). Un milieu sélectif à base cétrimide (ammonium quaternaire) permet la recherche et l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* à partir de produits biologiques (selles, urines, pus, liquide céphalo-rachidien...) ou sur géloses de Drigalski, SS, Mac Conkey ou EMB (Darghout *et al.* 2016).

Sur Muller-Hinton, la production de fluorescéine (pigment coloré diffusible de couleur verte) par la bactérie est observable. Sur Cetrimide, la production de

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

la pyocyanine (pigment coloré diffusible de couleur bleu) par la bactérie peut être vue (Archambaud *et al.*, 2008).

Trois types de colonies peuvent être observés simultanément ou de manière isolée sur milieux solides :

- Colonies larges “la” de 2 à 3 mm de diamètre à bord irrégulier rageuses, une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques (Figure II. 2).
- Colonies plus petites lisses “S” petites mates, bombées à bord régulier (Figure II.2).
- Colonies muqueuses “M” bombées coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d’un polymère d’alginate, souvent dans les infections pulmonaires (mucoviscidose) (Darghout *et al.* 2016) (Figure II. 2).

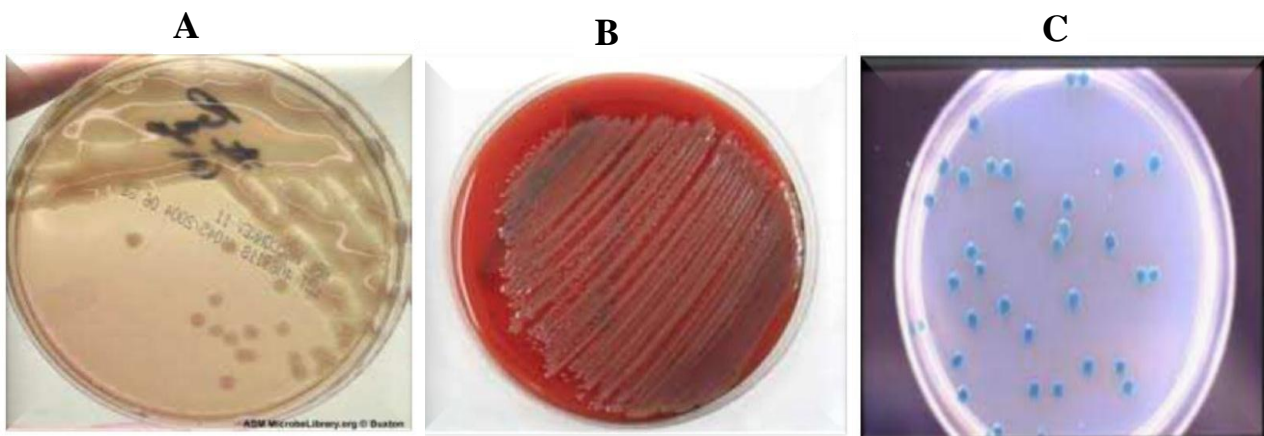


Figure II. 2: Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* (A : Larges. B : Small. C : Muqueuses (Solbi., 2013).

II.3.3.3 Caractères biochimiques

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est de type respiratoire aérobie stricte, possède un métabolisme oxydatif des sucres appréciable sur milieu MEVAG (milieu pour l'étude de la voie d'attaque des glucides) et une arginine-déshydrogénase et elle utilise l'ion citrate comme seule source de carbone (Memdouh *et al.*, 2018) (Tableau II.2).

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau II. 2: Caractéristiques biochimiques de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*.
(Ramos, J. L. 2011).

Caractères biochimique	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Oxydase	+
Nitrate réductase	+
Glucose	-
H ₂ S	-
Mannitol	+
Gélatinase	+
ADH	+
Uréase	+
Indole	-
TDA	-
Catalase	+
Pigments	+

Pseudomonas aeruginosa produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils sont mis en évidence dans le milieu de King B et King A ;

- **Pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- **Pyocyanine (phénazinique)** : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme. Cette espèce est la seule à le produire (**Darghout et al. 2016**).

II.3.4 Facteurs de virulence

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste qui possède plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent de coloniser et d'infecter les tissus de l'hôte (Figure II. 3).

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

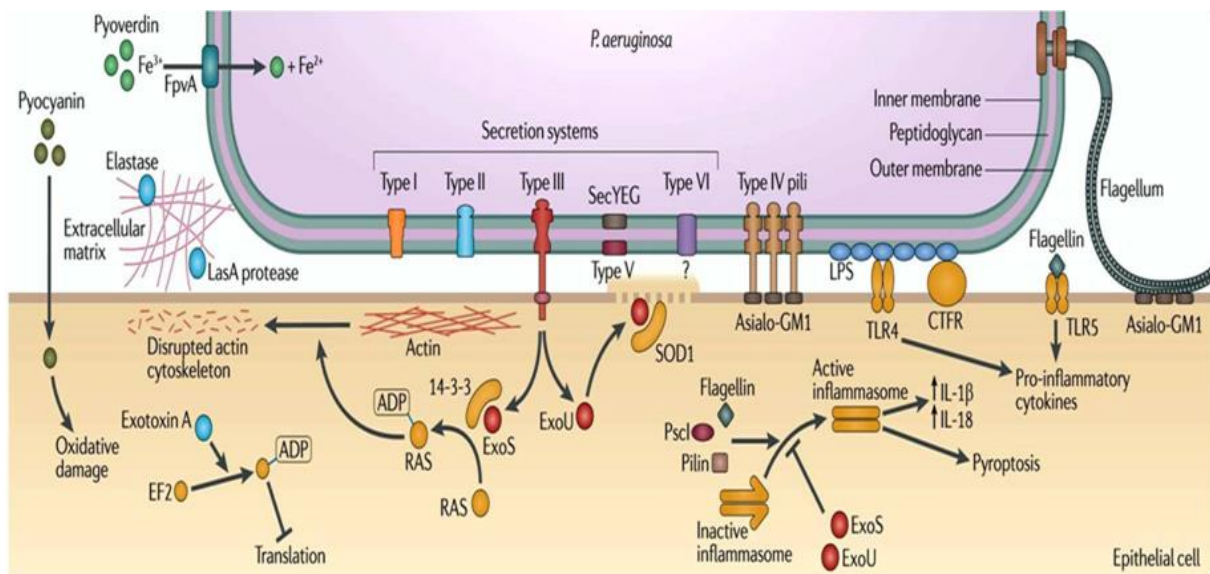


Figure II. 3: Représentation générale des facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* (Hauser et al., 2011).

Les facteurs de virulence jouent un rôle déterminant dans la pathogénèse des infections dues à *Pseudomonas aeruginosa* et dans la résistance aux traitements antibiotiques. Ils sont également des cibles potentielles pour le développement de nouveaux traitements. (Biquand., 2017) (Tableau II.3).

Tableau II. 3: Principaux facteurs de virulence de *P. aeruginosa* : leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques (Khalifa et al., 2011).

Facteur de virulence	mécanisme de virulence	Effet pathogène induit
Lipopolysaccharide (LPS)	-Stimulation de la paroi de la production de cytokines.	-Choc
Pili	-Adhésion aux cellules épithéliales respiratoire.	-Pathogénicité respiratoire.
Flagelle	-Adhésion aux mucines. -Mobilité : rôle dans l'internalisation.	-Diffusion bactérienne.
Alginate	-Provoque le phénotype muqueux. -Adhésion aux cellules trachéales. -Inhibition de la phagocytose, de l'action des antibiotiques et de la réponse immunitaire.	-Pathogénicité respiratoire. -Résistance aux défenses de l'hôte (phagocytose) et aux antibiotiques. -Responsable du caractère mucoïde des souches.
Exotoxine A	-Inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles.	-Mort cellulaire : nécrose tissulaire. -rôle important dans la virulence.
Exo enzyme S	-Effet cytotoxique. -Prolifération des LT.	-Nécrose tissulaire. -Entraine des lésions du

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

		glycopeptide, de la vimentine et des IgG et IgA.
Exo enzyme U	-Rôle anti-phagocytaire.	-Lésions des cellules épithéliales. - Responsable de bactériémie voire de choc septique.
Rhamnolipides	-Effet détergent	-Hydrolyse du surfactant.
Elastases(LasA+LasB)	-Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène.	-Destruction des tissus contenant de l'élastine. -Rôle important dans la virulence.
Protéase alcaline	Protéolyse	-Rôle dans les infections cornéennes.
Pyocyanine + pyoverdine	-Action bactéricide sur les autres bactéries. -Augmentation de la libération d'élastase -Inhibition des battements des cils. -Captage du fer. -Induisent la synthèse de radicaux libres.	-Favorise l'émergence du bacille pyocyanique. -Diminution de la clairance des bacilles. -Rôle dans la survenue de vascularite d'artères pulmonaire.
Lectines solubles	-Inhibition des battements ciliaires des cellules pulmonaires	-Pathogénicité respiratoire. -Rôle dans l'infection chronique.
Phospholipase C	-Effet cytolytique local.	-Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire) -Rôle dans l'infection aigue et chronique.

II.3.5 Le diagnostic clinique

Pseudomonas aeruginosa peut provoquer des infections chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli, telles que les patients atteints de fibrose kystique, les patients immunodéprimés ou les patients hospitalisés. Ces infections respiratoires peuvent se manifester sous différentes formes, notamment la pneumonie, la bronchite, la trachéite ou la bronchiolite (Qin *et al.*, 2022).

Les symptômes des infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa* peuvent varier en fonction de la gravité de l'infection et de la partie du système respiratoire touchée. Les symptômes courants comprennent une toux persistante de longue période, une production de crachats ou d'un épanchement pleural, douleur thoracique (serrement ou brûlure dans la poitrine), une difficulté à respirer (essoufflement), de la fièvre et une fatigue générale et excessive (Biquand., 2017).

Chapitre II Les affections respiratoires à *pseudomonas aeruginosa*

Il convient de noter que les symptômes peuvent varier d'une personne à une autre et que d'autres complications peuvent survenir en fonction de l'état de santé général de la personne et de la gravité de l'infection (Qin *et al.*, 2022).

II.3.6 Le diagnostic de laboratoire

II.3.6.1 Le prélèvement

Les résultats des examens bactériologiques dépendent fortement des conditions d'échantillonnage et de transport.

Ces prélèvements sont soit de consistance liquide (liquides d'épanchement, crachats) soit de consistance solide (drain), qui sont réalisées au niveau du service hospitalier du patient et sont acheminées aseptiquement vers le service de microbiologie (Denis., 2007).

II.3.6.2 Isolement

L'isolement des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, est obtenu par culture sur milieux sélectifs, ces milieux sont soit des milieux liquides soit des milieux solides (Dey *et al.*, 2017).

Pour les milieux liquides, on utilise souvent des milieux d'enrichissement tels que : le bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) qui contient des nutriments nécessaires pour la croissance de la bactérie (Dey *et al.*, 2017).

Pour les milieux solides on utilise ; Hektoen - Gélose au sang – gélose au sang frais, qui permettent la détection et l'isolement des bactéries par des techniques particulières d'ensemencement (Dey *et al.*, 2017).

II.3.6.3 Identification

L'identification de *pseudomonas aeruginosa* peut être réalisée par une combinaison des tests biochimiques, tests sérologiques et des tests de biologie moléculaire.

II.3.6.3.1 Tests biochimiques

En microbiologie, les tests biochimiques sont des méthodes utilisées pour identifier et caractériser les micro-organismes, tels que les bactéries, en se basant sur leur caractéristique biochimique. Ces tests permettent de déterminer les propriétés métaboliques des micro-organismes, leur capacité à utiliser certaines substances comme source de nutriments, et d'établir leur profil biochimique distinctif. Tels que les tests enzymatiques, les tests de fermentation, les tests d'oxydation/réduction, les tests de dégradation de substrats spécifiques, les tests de production de gaz, et d'autres réactions biochimiques clés (Forbes *et al.*, 2007).

Chapitre II Les affections respiratoires à *pseudomonas aeruginosa*

Différentes méthodes et systèmes de tests biochimiques sont disponibles, tels que les systèmes API (Analytical Profile Index) :

La galerie API 20 E contient 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés qui permettent l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Par contre l'API 20 NE, est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données (Towner *et al.*, 1987).

II.3.6.3.2 Autres tests d'identification

Tableau II. 4: Les examens d'identification bactérienne et leurs principes (Zouikri *et al.*, 2012).

Types de l'examen	Technique	Principe
Examen sérologique	L'agglutination	Elle consiste à mélanger des anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes de <i>pseudomonas aeruginosa</i> avec une suspension de la bactérie. Si les anticorps se lient aux antigènes de la bactérie, les cellules bactériennes s'agglutinent.
	L'immunofluorescence	Elle utilise des anticorps marqués par une substance fluorescente et ses anticorps se lient aux antigènes de la bactérie et la fluorescence est détectée à l'aide d'un microscope à fluorescence.
	L'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).	Elle utilise des anticorps spécifiques liés à une enzyme, ses anticorps se lient aux antigènes bactériens et l'enzyme est utilisée pour détecter la présence de la bactérie.
Examen de biologie moléculaire	PCR (polymerase chain reaction)	Elle permet d'amplifier l'ADN de la bactérie à partir d'un échantillon et détecter des séquences d'ADN propre à cette bactérie.
	Séquençage de l'ADN	Elle permet de déterminer la séquence d'ADN complète de la bactérie.
	Hybridation moléculaire	Elle utilise une sonde d'ADN spécifique qui se lie spécifiquement à des séquences d'ADN propres à <i>pseudomonas aeruginosa</i> et permet sa détection.
	RFLP (restriction fragment length polymorphism)	Elle utilise des enzymes de restriction qui coupent l'ADN à des endroits spécifiques, produisant des fragments d'ADN de différentes tailles. Les différences dans les tailles des fragments d'ADN permettent de différencier les souches <i>pseudomonas aeruginosa</i> .

II.3.6.4 L'antibiogramme

L'antibiogramme est un test *in vitro* qui sert à orienter le schéma thérapeutique, à étudier la résistance et la sensibilité de la bactérie aux ATB et à faciliter la surveillance épidémiologique de la résistance. Il est réalisé par la méthode conventionnelle de diffusion des disques en milieu gélosé. (Milieu de Mueller-Hinton) (Towner., 2019).

II.3.7 Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

II.3.7.1 Définition

La résistance antimicrobienne est définie comme la capacité acquise des micro-organismes à résister aux effets inhibiteurs des antibiotiques auxquels les espèces sont généralement sensibles (Qin *et al.*, 2022).

II.3.7.2 Types de résistance

On distingue deux types de résistance aux antibiotiques :

II.3.7.2.1 Résistance innée

C'est une résistance programmée dans le génome Bactérien, c'est à dire fixe et constante au sein du taxon.

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un très grand nombre d'antibiotiques tel que les pénicillines des groupes V G M et A(amoxicilline), à la plupart des céphalosporines de première et de seconde génération, ainsi qu'une grande partie de céphalosporines de troisième génération (céfotaxime), les phénicolés, les tétracyclines, le cotrimoxazole, les macrolides, les glycopeptides, les imidazolés, les lincosamides et la kanamycine (Biquand., 2017).

Cette résistance est due à la présence des gènes de résistance chromosomiques tels que :

- Le gène Ampc qui code pour une céphalosporinase, son expression induite et réversible confère une résistance à l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines anti- *Pseudomonas*, et à l'aztréonam (Barbier *et al.*, 2010).
- Les gènes qui codent pour des systèmes d'efflux actif (chez *pseudomonas aeruginosa* on a 12 gènes de la famille RND qui sont capable de produire des systèmes d'efflux actif) et parmi ces systèmes on cite la pompe constitutive MexAB-OprM et MexXY-OprM (système de résistance inné et sont capables d'effluer une très large gamme d'antibiotiques) (Margaux., 2022).

II.3.7.2.2 Résistance acquise

On parle de résistance acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes. Elle résulte des mutations spontanées ou de l'acquisition de nouveau matériel génétique par un autre microorganisme. Elle est présente seulement dans certaines souches. Elle constitue un marqueur épidémiologique (**Sardi., 2021**).

Parmi les gènes de résistance acquise on cite les gènes IMP et VIM qui sont acquises à partir d'un transfert de matériel génétique entre bactéries et plus fréquemment entre BGN (entérobactéries, *Acinetobacter sp*, *Pseudomonas sp*). Ces types de transferts sont multiples et reposent sur des éléments génétiques : plasmides et transposons mais également des intégrons et c'est le cas de ces deux gènes car elles se trouvent principalement dans un intégron de classe I, caractérisé par un gène d'intégrase *intI* associé à un transposase *tnpA* (**Sardi., 2021**).

II.3.7.3 Mécanismes de résistance aux antibiotiques

- **Inactivation enzymatique** : Ces enzymes, produites par les bactéries, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. Leurs substrats sont les bêta-lactamines, les aminosides, le chloramphénicol ou les antibiotiques de la famille des macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) (**Léon et al., 1990**) (Tableau II.5).
- **Diminution de la perméabilité** : Ce mécanisme n'affecte que les "Gram négatifs", car la barrière constituée par le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, permettent le passage de molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les aminosides, les phénicolés ou les tétracyclines. Des mutations entraînant des modifications quantitatives ou qualitatives de ces porines sont responsables de résistances acquises souvent croisées à plusieurs familles d'antibiotiques (**Léon et al., 1990**) (Tableau II.5).
- **Mécanisme d'efflux actif** : Le mécanisme d'efflux actif est une stratégie de défense que les bactéries utilisent pour éliminer les antibiotiques du cytoplasme avant qu'ils ne puissent atteindre leur cible intracellulaire, réduisant ainsi leur concentration à l'intérieur de la bactérie et évitant ainsi les effets toxiques des antibiotiques (**Diagne., 2021**) (Tableau II. 5).

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

- **Modification de la cible** : chaque antibiotique à une cible spécifique dans la bactérie, mais chez les bactéries résistantes cette cible va être modifiée ce qui empêche l'antibiotique de se lier et de tuer la bactérie.

Dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*, la modification de la cible est provoquée par des mutations génétiques qui altèrent la structure, ou l'expression de gènes qui produisent ces cibles tels que les enzymes de la paroi cellulaire et les protéines ribosomales (Martin., 2021) (Tableau.II.5).

Tableau II. 5: Mécanismes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* envers plusieurs antibiotiques (Berry., 2019) (Qin et al., 2022).

Mécanismes de résistance	Antibiotiques	Exemples
Inactivation enzymatique	B-lactamines	-Certains plasmides acquis par transfert horizontal permettent aussi la synthèse de nouvelles B-lactamases -Production d'une B-lactamase inductible à spectre large (ampC) qui entraîne une augmentation significative de la résistance aux céphalosporines. Et d'une B-lactamase à spectre restreint (OXA-50) -L'ampC peut être surproduite suite à une mutation du régulateur transcriptionnel AmpR -Production des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (mécanisme le plus important en termes de lutte contre les antibiotiques) -L'APH (l'aminoglycoside phosphotransférase) peut inactiver la streptomycine en transférant le groupe phosphate au groupe 3'-hydroxyle des aminoglycosides. -L'AAC (l'aminoglycoside acétyltransférase) peut provoquer une résistance à la gentamicine en transférant le groupe acétyle au groupe amino aux positions 3' et 6' de l'aminoglycoside. -L'ANT (l'aminoglycoside nucléotide transférase) confère à <i>P. aeruginosa</i> une résistance à l'amikacine en transférant des groupes adénosine aux groupes amino ou hydroxyle de ces aminoglycosides.
	Céphalosporines	
	Aztréonam	
	Penicilline	
	Aminosides	-Production d'une enzyme modificatrice des aminosides (APH(3)-Iib)
Diminution de la perméabilité	Carbapénèmes	-Membrane externe peu perméable aux petites molécules -Mutation du gène OprD qui permettent d'inhiber la synthèse de la porine connue pour être le canal d'entrée favori des carbapénèmes -Réduction de la quantité ou changement de structures des porines -La protéine H de la membrane externe (OprH) de <i>P. aeruginosa</i> améliore la stabilité de la membrane externe
	Fluoroquinolones	
	Céphalosporines de 3eme	

Chapitre II Les affections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*

	génération	par une interaction directe avec le LPS pour réguler la résistance aux antibiotiques.
Efflux actif	B-lactamines	-Production constitutive d'un système d'efflux actif dénommé (MexAB-OprM / MexXY-OprM) -Surexpression des gènes codant pour les pompes à efflux par exemple, la souche de référence PA7 reflue les aminoglycosides et les fluoroquinolones grâce à la surproduction de la pompe à efflux MexEF-OprN, résultant de la mutation d'un acide aminé du régulateur MexS. -La régulation à la hausse de MexCD-OprJ est étroitement associée à une résistance accrue de la plupart des souches cliniques à la ciprofloxacine, au céfépime et au chloramphénicol.
	Quinolones	
	Tétracyclines	
	Chloramphénicol	
	Sulfamides	
	Aminoglycosides	
	Céphalosporines	
Modification de la cible	fluoroquinolones	-Mutations chromosomiques des gènes codant pour les gyrases GYR A et GYR B ou les topoisomérases IV ParC et ParE qui induit la résistance aux fluoroquinolones
	B- lactamines	-Mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour des PLPs nouvelles. Ces mutations peuvent aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLPs, avec diminution d'affinité pour les bêta lactamines.
	Tétracyclines et les aminoglycosides	-Mutation dans la cible de l'antibiotiques ribosomale

Pendant ce temps, l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* peut également faire face à un traitement antibiotique en formant des cellules persistantes, empêchant ainsi la synthèse de cibles antibiotiques. Les molécules persistantes peuvent maintenir la vitalité et remplir les biofilms (Qin *et al.*, 2022), donc les bactéries persistantes jouent également un rôle important dans les phénomènes de résistance aux antibiotiques et de persistance des infections chroniques. Il s'agit d'une sous-population de bactéries transitoirement quiescentes qui ne sont pas affectées par les antibiotiques et qui sont capables d'engendrer une nouvelle population dès lors que le stress antimicrobien est levé. Des bactéries persistantes *Pseudomonas aeruginosa* sont par exemple responsables des infections pulmonaires chroniques à répétition chez les patients atteints de mucoviscidose (Berry., 2019).

Face aux divers stimuli environnementaux, les bactéries obtiennent une résistance adaptative pour augmenter la résistance aux antibiotiques par des changements transitoires dans l'expression des gènes et des protéines par un éventail d'approches. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la formation de biofilms est la stratégie la plus typique pour acquérir une

Chapitre II Les affections respiratoires à pseudomonas aeruginosa

résistance adaptative aux antibiotiques (**Qin et al., 2022**). La capacité des bactéries *Pseudomonas* pour former un biofilm sont également un mécanisme important avec lequel elles peuvent augmenter la résistance aux antibiotiques, la pathogénicité et résister aux défenses de l'hôte (**Wilson et al., 2022**).

Chapitre III

Etude expérimentale

III.1 Matériels et Méthodes

III.1.1 Problématique

Sur le plan clinique *Pseudomonas aeruginosa* est un germe pathogène qui peut provoquer une variété d'infections, notamment des infections respiratoires (Weihui *et al.*, 2015).

C'est pour cela nous avons réalisé une étude prospective de la place du *Pseudomonas aeruginosa* dans les infections pleuropulmonaires au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Sidi Belloua.

Divers prélèvements ont été réalisés au service de pneumologie tels que les crachats et les liquides pleuraux provenant des patients hospitalisés ou bien externes, ces échantillons sont ensuite acheminés au service de laboratoire de microbiologie, afin d'identifier les souches responsables de ces infections en se référant aux caractères culturels, biochimiques et les tests de sensibilité aux antibiotiques pour évaluer la résistance de notre souche.

III.1.2 Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective portant sur l'identification phénotypique des souches *pseudomonas aeruginosa*, en plus de cette approche phénotypique nous avons fait le recueil de données des patients hospitalisés ou traités en externe.

III.1.2.1 Zone d'étude

Ce stage a duré deux mois (13 novembre au 13 avril 2023). Il a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital CHU Sidi Belloua de Tizi Ouzou.

L'hôpital Sidi Belloua est une structure sanitaire d'Algérie située au nord de la ville de Tizi Ouzou près de Sidi Belloua et Redjaouna, en Grande Kabylie. Il dépend du centre hospitalo-universitaire de Tizi Ouzou et relève de la Direction de la Santé et de la Population de la wilaya de Tizi Ouzou, comme l'hôpital Nedir Mohamed (Figure III.1. 1).



Figure III.1. 1: Hôpital Sidi Belloua de Tizi-Ouzou.

III.1.2.2 Collecte des données (Fiche d'enquête)

Nous avons réalisé une fiche d'enquête qui consiste en l'extraction des résultats enregistrés dans les registres d'archives du laboratoire de microbiologie depuis le 13 novembre au 13 avril 2023. Cette fiche comporte ; le numéro d'identification du patient, le nom du patient, la date d'isolement, la nature du prélèvement, service d'hospitalisation, le germe identifié et les antibiotiques testés avec leur profil de sensibilité (S, I, R).

III.1.2.3 Les prélèvements

Les prélèvements étaient déposés dans une zone dédiée afin de les enregistrer dans le registre d'accueil et les étiqueter à l'aide d'une étiquette sur laquelle sont mentionnées les informations nécessaires à leurs identifications.

Cette opération de tri et d'enregistrement est une étape essentielle qui nécessite un environnement calme pour éviter toute erreur d'étiquetage.

A. Méthodes

A.1 Prélèvement d'expectoration (crachat)

Le prélèvement doit se faire en dehors de toute antibiothérapie de préférence le matin au réveil après brossage des dents et rinçage de la bouche à l'eau minérale (éliminer le maximum de salive), il doit être obtenu grâce à un effort de toux profond ramenant des sécrétions bronchiques qui vont être collectées dans un pot stérile. Il ne doit être ouvert qu'au moment du prélèvement pas avant (**Delavo *et al.*, 1973**).

Plusieurs techniques de recueil des sécrétions bronchiques peuvent être utilisées :

- L'expectoration spontanée : après un lavage de dents et des gargarismes avec de l'eau stérile ou un agent antiseptique pour éliminer au maximum la salive.
- L'expectoration provoquée : Une solution salée est nébulisée pour induire l'expectoration des sécrétions bronchiques.
- La kinésithérapie de drainage fait appel aux techniques de kinésithérapie respiratoire pour recueillir des expectorations de meilleure qualité.
- Les prélèvements protégés des sécrétions broncho-pulmonaires impliquent des techniques plus invasives :
 - Le brossage bronchique protégé (BBP).
 - Le lavage broncho-alvéolaire (LBA).
 - L'aspiration endo-trachéale (AET).

A.2 Ponction pleurale (épanchement pleural)

La ponction pleurale est indiquée lorsqu'il existe un épanchement anormal de liquide dans la cavité pleurale, consiste à introduire une aiguille au niveau des poumons, dans l'espace pleural, et à y prélever un échantillon de liquide (Cécile., 2021).

A.3 Drain thoracique

Le drainage thoracique est un acte médical qui est réalisé après intervention chirurgicale avant fermeture de l'incision du malade. Il consiste à l'introduction d'un drain de Redon (de calibre variable) dans l'espace pleural, pour évacuer un épanchement aérien ou liquidien pour ramener la surface du poumon à la paroi thoracique, à l'aide d'un système d'aspiration par pression négative (Delavo *et al.*, 1973).

➤ Transport des prélèvements

Le prélèvement de crachat doit être acheminé immédiatement au laboratoire pour éviter la prolifération des bactéries commensales et la mort des bactéries pathogènes fragiles. Si le prélèvement a lieu à domicile, il est impératif qu'il soit conservé et transporté à température ambiante (Cécile., 2021).

La seringue utilisée pour le prélèvement du liquide pleural est directement bouchée, après avoir retiré l'aiguille et après avoir purgé l'air de cette dernière (pour ne pas compromettre la culture). Le prélèvement doit être acheminé rapidement (<30 min.) au laboratoire. Si l'acheminement doit être postposé (max. 2h) (Delavo *et al.*, 1973).

Pour le drain thoracique, après avoir désinfecté le site d'insertion, le retirer, puis couper son extrémité distale avec des ciseaux stériles et le placer dans un pot stérile. L'acheminement au laboratoire doit se faire dans l'heure qui suit le prélèvement (Delavo *et al.*, 1973).

III.1.2.4 Au laboratoire

III.1.2.4.1 Matériels utilisés

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé plusieurs matériels, milieux (annexe 04) et réactifs qui permettent d'analyser, isoler et réaliser l'antibiogramme afin d'identifier notre germe (Voir annexe 01, annexe 02, annexe 03) (Figure III.1.2).



Figure III.1. 2 : Matériels utilisés au laboratoire.

III.1.2.4.2 Techniques d'analyse

III.1.2.4.2.1 Aspect macroscopique

L'examen macroscopique représente la première étape de l'analyse microbiologique qui permet de noter les principaux caractères des prélèvements :

- Liquide pleural :



Figure III.1. 3 : Aspect hémorragique.



Figure III.1.4 : Aspect purulent et rosé.



Figure III.1.5 : Aspect jaune clair.

- Crachat :

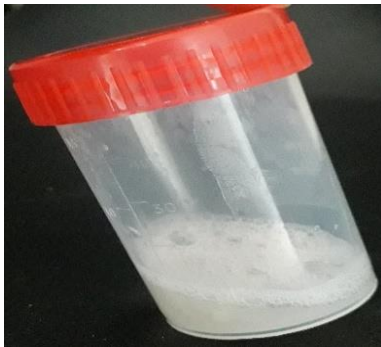


Figure III.1.6 : Aspect salivaire.

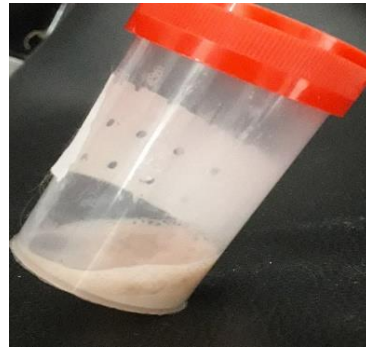


Figure III.1.7 : Aspect visqueux et purulent.

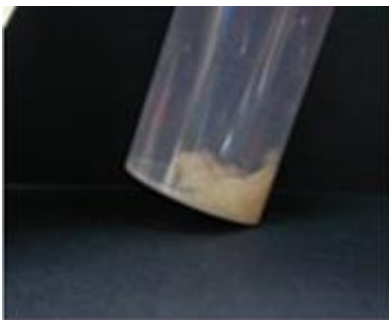


Figure III.1.8 : Aspect Muqueux.



Figure III.1.9 : Aspect fluide et purulent.

- Drain :



Figure III.1.10 : Aspect citrin.



Figure III.1.11 : Aspect hématiche.

III.1.2.4.2.2 Etude microscopique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué en deux phases : sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle ou bien après coloration de l'échantillon.

A. Etude de la cytologie, L'examen à l'état frais

Le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi que leur mobilité, leur morphologie et éventuellement la présence de levures, de cristaux ou de cellules sanguines.

L'étude de la cytologie se fait sur un hématimètre de Malassez qui permet de compter le nombre de cellules de l'inflammation dans un prélèvement pathologique. Cette étude est réalisée sur le liquide pleural. Elle est qualitative et quantitative (Figure III.1. 2). (Etape de la technique "voir annexe 04")

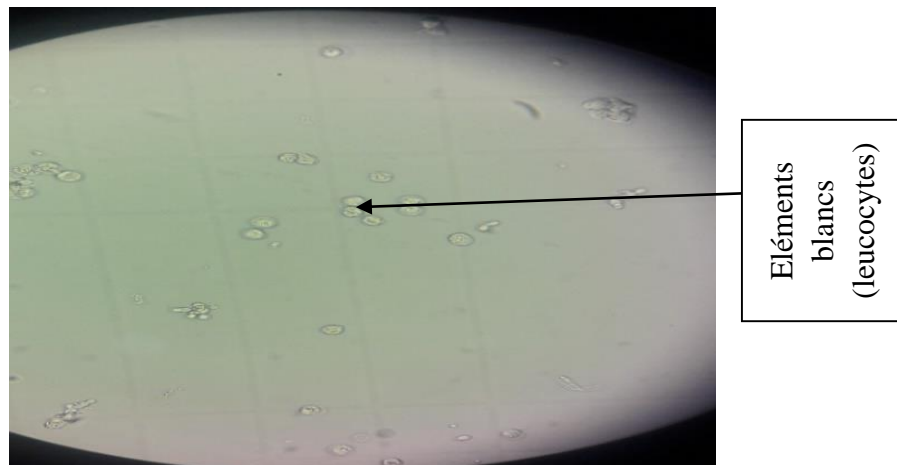


Figure III.1.12 : Réalisation d'un état frais du liquide pleural observé à l'objectif×40.

B. Coloration au bleu de méthylène (BM)

❖ Principe

La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple où un seul colorant est utilisé pour souligner des structures particulières dans l'échantillon, la forme (la taille et la disposition des bactéries). Les organismes d'un échantillon seront de la même couleur, même si l'échantillon contient plus d'un type d'organisme. (Annexe 04)

Cette technique est utilisée pour l'examen cyto-bactériologique des crachats, pour le but de savoir si notre prélèvement est de bonne qualité ou de mauvaise qualité (Figure III.1. 3). On doit déterminer :

- Le nombre de PNN par champs (>25 PNN /champs)
- Le nombre de cellules épithéliales par champs (< 10 cellules épithéliales /champs)
- Apprécier la flore bactérienne

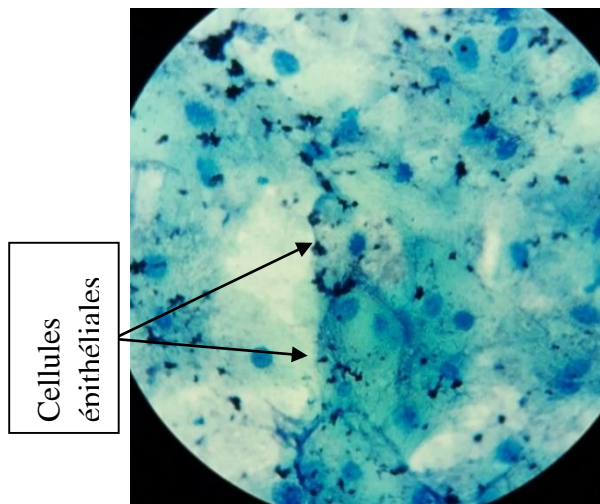


Figure III.1.13 : Coloration au bleu de méthylène d'un prélèvement ECBC de mauvaise qualité observée à l'objectif x100.

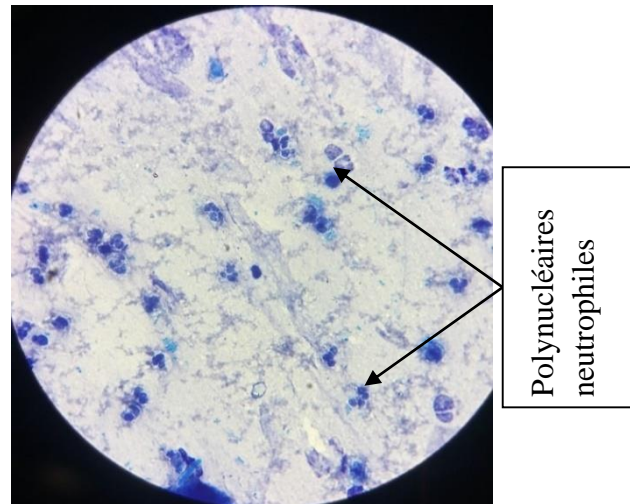


Figure III.1.14 : Coloration au bleu de méthylène d'un prélèvement ECBC de bonne qualité observée à l'objectif x100.

C. Coloration de may grunwald et giemsa (MGG)

La coloration de May-Grunwald-Giemsa (MGG) est principalement à visée cytologique pour une meilleure individualisation des éléments cellulaires tels polynucléaires, macrophages, lymphocytes... elle est utilisée pour l'examen cyto bactériologique du liquide pleural (Figure III.1. 4). (Etape de la technique "voir annexe 04").

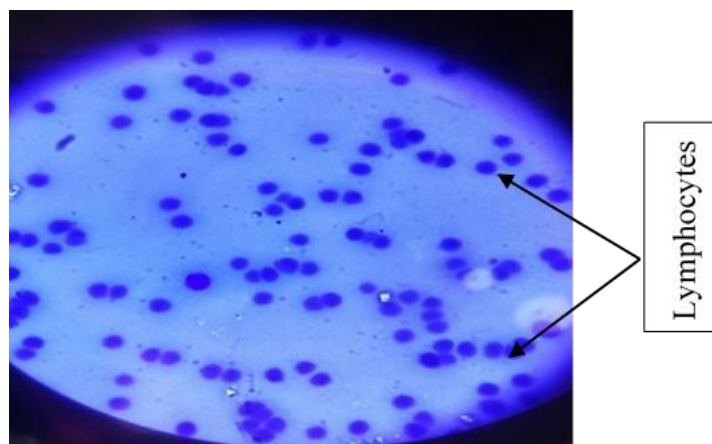


Figure III.1.15 : Coloration MGG du liquide pleural observée à l'objectif x100.

❖ La formule leucocytaire sur frottis coloré au MGG

L'examen des résultats obtenus est susceptible d'influencer sensiblement la suite de l'analyse. Parmi ces résultats, trois types de formules cytologiques sont particulièrement évocateur :

- ✓ Prédominance de granulocytes neutrophiles : La présence de granulocytes neutrophiles altérés oriente vers une infection bactérienne.
- ✓ Prédominance de lymphocytes : Elle est beaucoup plus fréquente dans un liquide clair que dans un liquide purulent. Une telle formule doit faire penser à une infection tuberculeuse ou virale.
- ✓ Formule panachée : Le taux de lymphocytes est égal au taux des polynucléaires neutrophiles qui oriente vers les deux infections bactériennes et virales.

III.1.2.4.2.3 Etude bactériologique (isolement et culture)**A. Enrichissement**

- Le diagnostic des germes exigeants présents dans le liquide pleural ainsi que dans le drain nécessite un enrichissement sur les bouillons (BHIB et bouillon d'hémoculture) (Figure III.1. 5).

L'enrichissement du liquide pleural se fait par les étapes suivantes :

- A l'aide d'un coton alcoolisé, stériliser le bouchon du flacon du bouillon d'hémoculture
- Avec l'aiguille contenant le liquide pleural, injecter une petite quantité dans ce bouillon puis homogénéiser.
- Stériliser encore une fois le bouchon
- Incuber le bouillon à 36.5°C pendant 7 jours (si on a présence d'un trouble avant les 7 jours, la mise en culture sur GSF et GSC est réalisé, sinon on attend la fin du délai et on lance la culture)



Figure III.1.16 : La mise en culture des bouillons d'enrichissement sur GSF et GSC.

La culture sur les 03 milieux est lancée au même temps que l'enrichissement

- Pour le drain, une quantité de bouillon BHIB est coulée dans le pot stérile contenant le drain puis incubé à 36.5°C pendant 24 heures, le lendemain, la culture est lancée sur les 03 milieux

B. isolement

L'isolement va se faire à partir d'un prélèvement pathologique grâce à un ensemencement sur les 03 milieux (Hektoen, gélose au sang cuite, gélose au sang frais) qui est réalisé par les différentes techniques d'ensemencement en quadrants afin d'avoir des colonies isolées (épuisement) (Figure III.1. 6).

Si on remarque une présence de levures à l'état frais, on réalise un ensemencement par stries serrées sur le milieu Sabouraud (chloramphénicol / (chloramphénicol + actidione)

❖ Etapes

- Le dépôt des échantillons consiste à déposer l'inoculum à la périphérie de la boîte sur les milieux de culture.
- Ensemencer par la méthode des quadrants.
- Incuber les boîtes à 37 °C pendant 24 heures (GSF et GSC dans la jarre pour assurer l'anaérobiose)



Figure III.1.17 : Ensemencement par la technique des 04 quadrants.

III.1.2.4.2.4 Identification

L'identification bactérienne est orientée d'abord par les examens macroscopiques et microscopiques.

A. Examen macroscopique

L'examen est appliqué principalement sur la gélose Hektoen, basé sur la recherche des caractéristiques suivantes : couleur, pigmentation, forme, aspect de surface, aspect des bords de colonies, consistance, opacité et fermentation du lactose.

Ces caractéristiques macroscopiques de colonies sont les plus impliqués dans la connaissance du genre *Pseudomonas*

Pseudomonas aeruginosa est observée comme suit :



Figure III.1.18 : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur hektoen.

Figure III.1.19 : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur GSF.

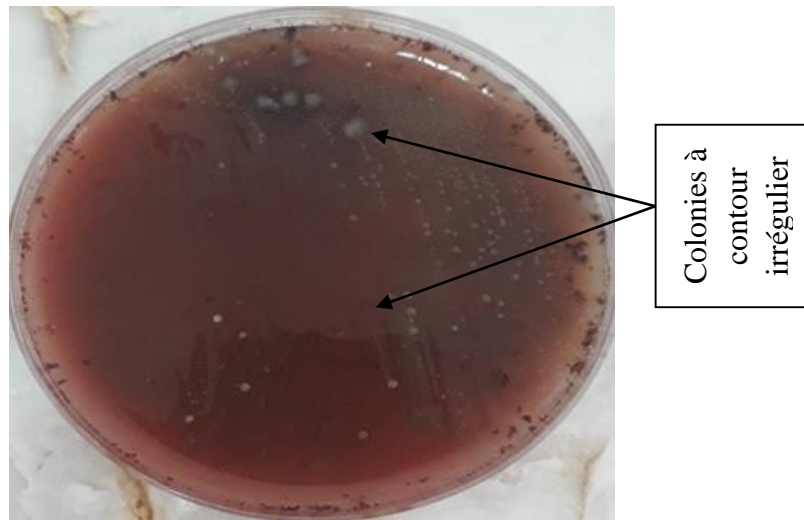


Figure III.1.20 : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur GSC.

⇒ Si nécessaire, après 24h, un repiquage sur un milieu sélectif (Hektoen) est fait à partir d'une colonie isolée afin de s'assurer de la pureté de la souche isolée.

B. Examen microscopique

B.1 Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais s'agit d'observer des cellules bactériennes vivantes et donc leur pouvoir locomoteur sera parfaitement mis en évidence si l'espèce étudiée est mobile et permet aussi de déterminer la morphologie, le regroupement et la densité des germes (Figure III.1. 7). (Etapas de la technique "voir annexe 05")

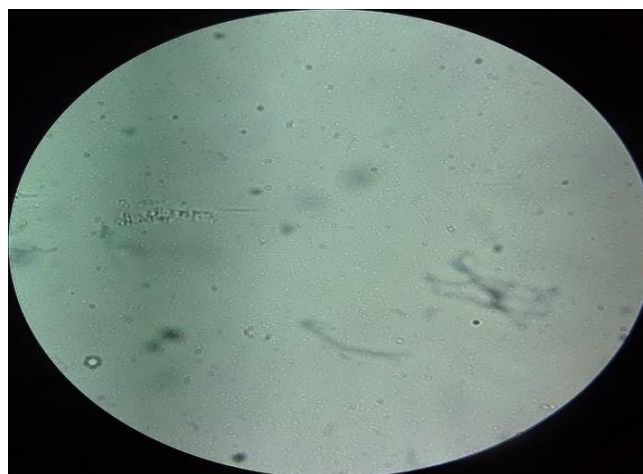


Figure III.1.21 : Etat frais de *Pseudomonas aeruginosa* observé à l'objectif x40.

B.2 Coloration de gram

Les cellules bactériennes réagissent de deux façons et forment deux groupes :

- Les une dites à Gram négatif se décolorent rapidement par l'action de L'éthanol : les lipides de la paroi bactérienne se dissolvent et rendent celle-ci poreuse, provoquant ainsi la décoloration du cytoplasme.

- Les autres conservent leur coloration violette et sont dites à Gram positif : L'éthanol ne décolore pas la cellule car la paroi est de composition en majorité protéinique (Figure III.1. 8). (Etapas de la technique " voir annexe 05").

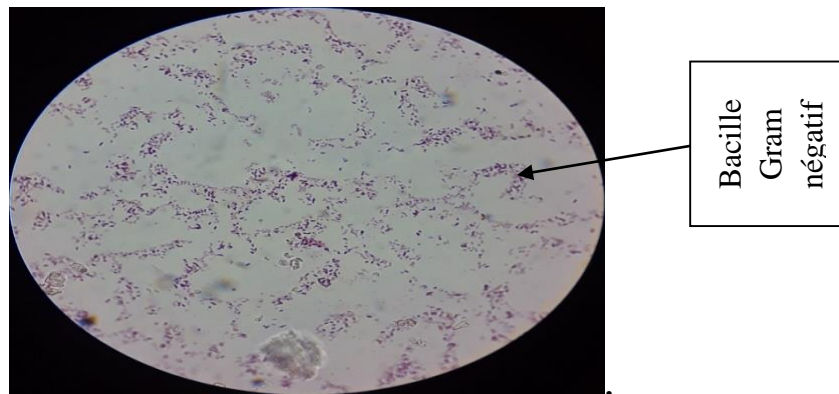


Figure III.1.22 : Coloration de gram de *Pseudomonas aeruginosa* observée à l'objectif x100.

C. Identification biochimique

C.1 Test de l'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme de la chaîne respiratoire : le cytochrome oxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyle-paraphénylène-diamine. Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, libère un composé violet (Figure III.1. 9). (Etapas de la technique "voir annexe 06")

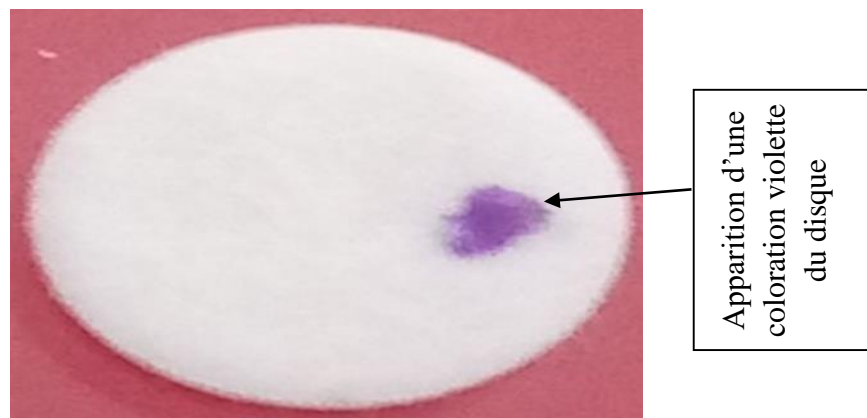


Figure III.1.23 : Réaction positive de *Pseudomonas aeruginosa* à l'oxydase.

C.2 Test de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :



Produit toxique	formation de
Pour Les bactéries	bulle

Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Figure III.1. 10). (Etapas de la technique “voir annexe 06”)

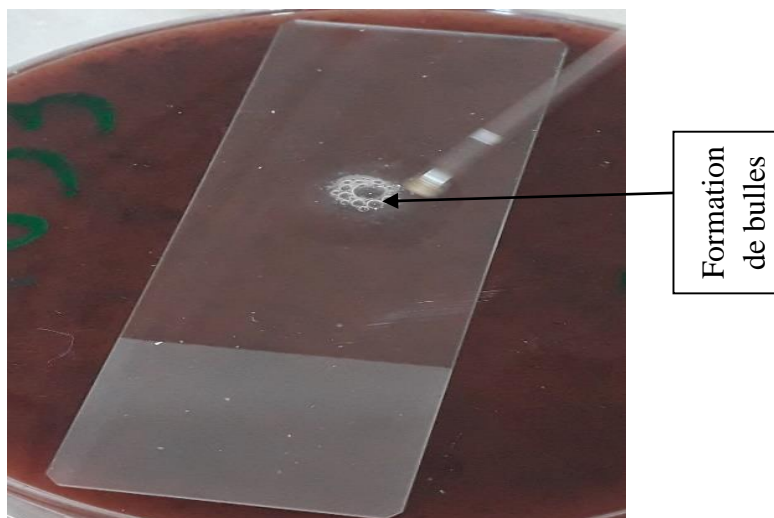


Figure III.1.24 : Réaction positive de *Pseudomonas aeruginosa* à la catalase.

C.3 Galerie biochimique API

Galerie API (analytical profile index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques qui permettent l'identification de micro-organismes, exploitable avec des bases de données d'identification complètes dont la plus connue est l'api 20E (20 caractères pour les entérobactéries). Les galeries sont choisies par les biologistes dans le monde du fait de leur facilité d'utilisation et de leur haute performance.

Le genre *Pseudomonas* peut être identifié en utilisant l'API 20E (Figure III.1. 11), par contre pour identifier l'espèce on doit utiliser l'API 20 NE “*Pseudomonas aeruginosa*” (Figure III.1. 12). (Etapas et principe de la technique “voir annexe 06”) (table de lecture des API “voir annexe 07”)



Figure III.1.25 : API 20E positive vs négative.



Figure III.1.26 : API 20 NE positive vs négative.

❖ Résultats :



Figure III.1.27 : Galerie API 20E du genre *Pseudomonas Spp.*



Figure III.1.28 : Galerie API 20 NE de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa.*

C.4 L'antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode de laboratoire utilisée pour déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne à différents antibiotiques. (La réalisation de l'antibiogramme " voir annexe 08")



Figure III.1.29 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* du liquide pleural.

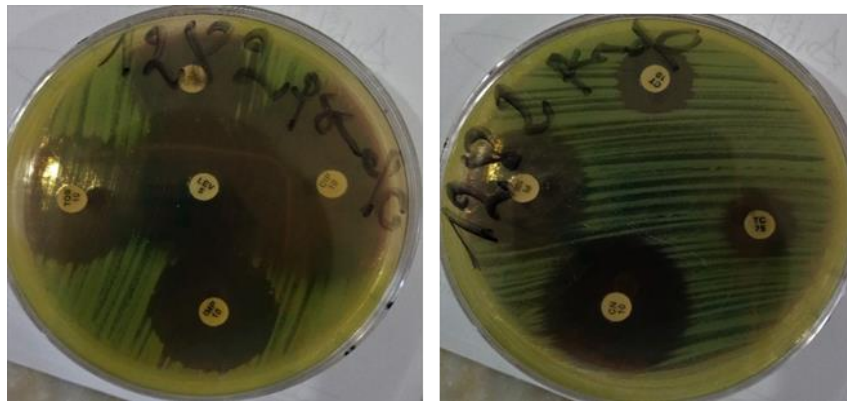


Figure III.1.30 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* de l'ECBC.



Figure III.1.31 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* du DT

III.2 Résultats

III.2.1 Répartition globale

Sur une période de 06 mois allant du 13 novembre 2022 au 13 avril 2023 (étude globale), 171 prélèvements sont recueillis et analysés au niveau du laboratoire de microbiologie.

Durant cette étude plusieurs souches bactériennes ont été isolées et identifiées. (Tableau III.2.1 et Figure III.2.1)

Tableau III.2. 1: Répartition globale des souches bactériennes.

Souches bactériennes	Nombre de souches isolés	Le pourcentage
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	48%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	06	11%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	03	5%
<i>Pseudomonas spp</i>	03	5%
<i>Burkholderia cepacia</i>	02	3%
<i>Entérobacter cloacae</i>	02	4%
<i>proteus mirabilis</i>	02	4%
<i>Escherichia coli</i>	02	4%
<i>klebsiella spp</i>	02	4%
<i>Enterobacter</i>	01	2%
<i>Proteus spp</i>	01	2%
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	01	2%
<i>Gemella morbillorum</i>	01	2%
<i>Chryseomonas luteola</i>	01	2%
<i>Citrobacter freundii</i>	01	2%

En plus des souches bactériennes isolées, on a également identifié la présence de levures et de champignons, incluant deux candida albicans et un aspergillus.

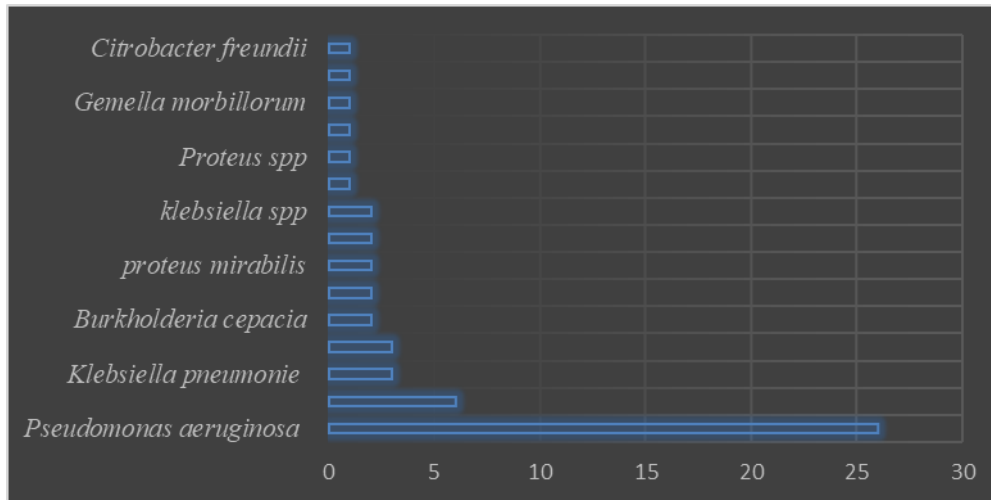


Figure III.2 1: Répartition globale des souches bactériennes.

Selon les résultats obtenus à partir de cette étude, on remarque que le taux de *Pseudomonas aeruginosa* isolés est plus élevé (48%) par rapport aux autres souches bactériennes.

III.2.2 Répartition selon le sexe

171 patients ont été inclus durant cette période, et parmi cette population on a reçu 101/171 patients homme, et 70/171 patients femmes, la figure représente les différents taux. (Figure III.2.2).

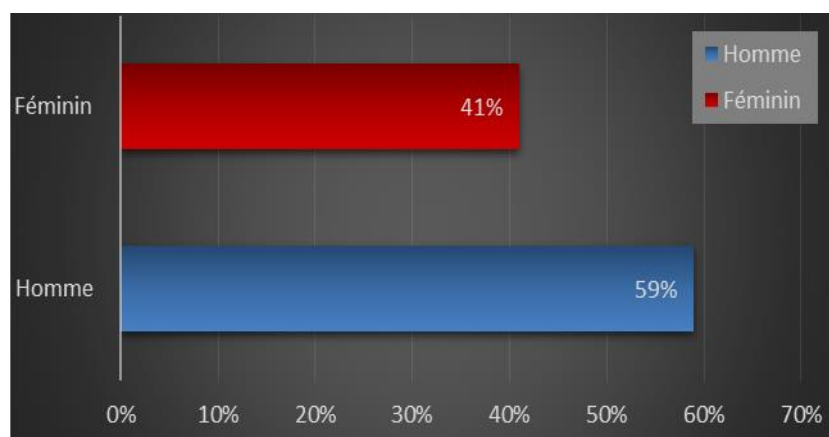


Figure III.2 2: Répartition globale selon le sexe.

D'après les résultats obtenus, on remarque une prédominance de taux des patients de sexe masculin 59%, avec un sexe ratio d'égale à 1,43.

III.2.3 Répartition selon l'âge

Sur les 112 patients, plusieurs tranches d'âge ont été observées, selon le tableau ci-dessus divers intervalles ont été réalisés afin de faciliter la répartition des patients selon l'âge (Figure III.2.3).

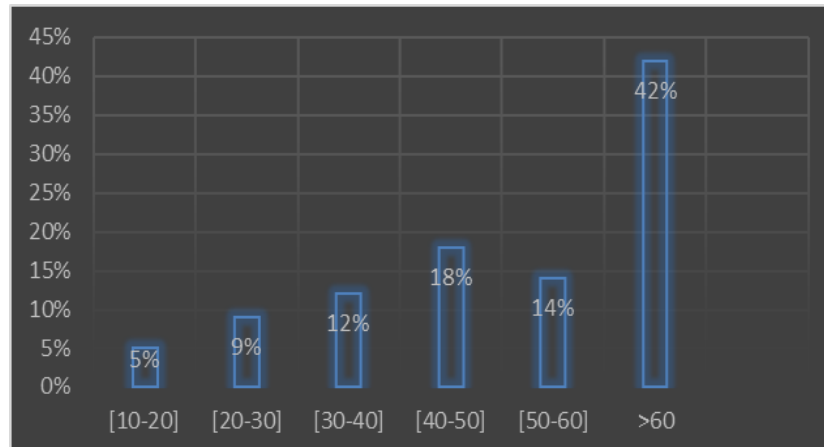


Figure III.2 3: Répartition globale selon l'âge.

Sur 171 patients, l'âge moyen de notre population était 58ans, les taux d'isolement les plus élevés étaient observés dans la catégorie d'âge de plus de 60ans (42%).

III.2.4 Répartition selon l'origine de la demande d'analyse

La répartition selon le service concerne uniquement le service de pneumologie et les consultations externes (prélèvements externes). Sur les 171 prélèvements, la majorité ont été issue de service de pneumologie (155/171). (Figure III.2.4).

91% des prélèvements ont été issus du service de pneumologie.

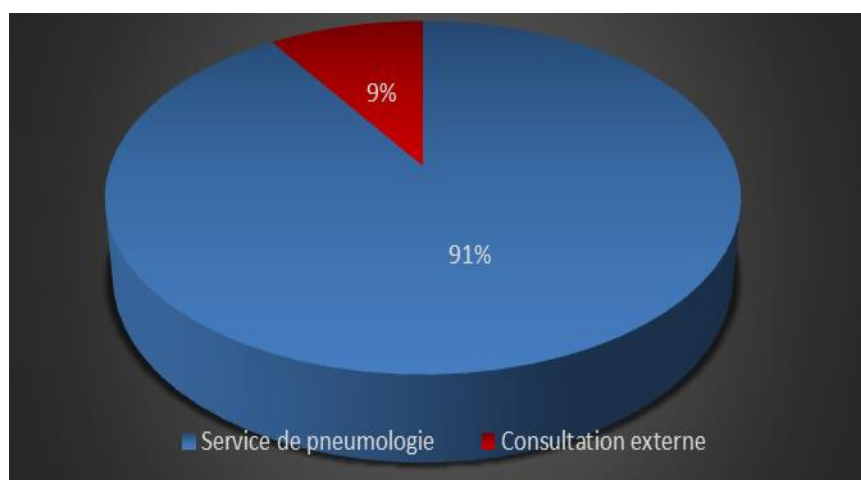


Figure III.2 4: Répartition globale selon l'origine de la demande d'analyse.

III.2.5 Répartition selon la nature du prélèvement

Nous avons réalisé des analyses bactériologiques sur les prélèvements respiratoires à savoir les crachats (72), drains thoraciques (13), liquides pleuraux (82). (Figure III.2.5).

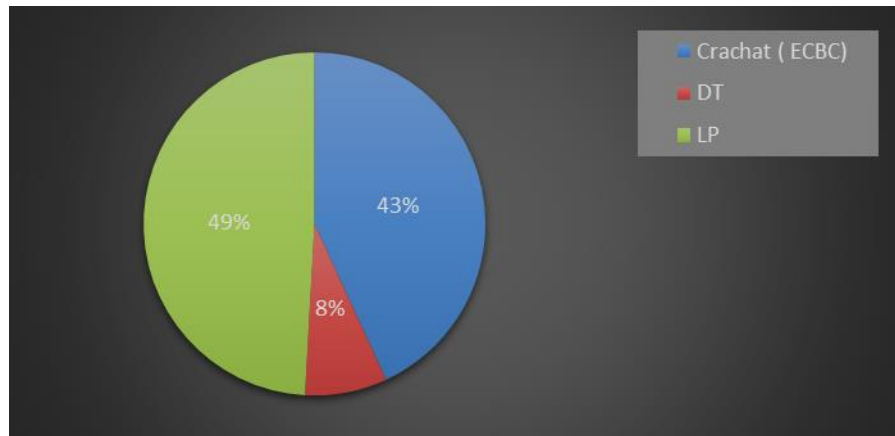


Figure III.2 5: Répartition globale selon la nature du prélèvement.

La plupart des prélèvements qui ont été acheminé vers le laboratoire sont des liquides pleuraux avec un taux élevé 49% suivie des crachats 43%, alors que les drains thoraciques présentent une très basse fréquence 08%.

III.2.6 Résultat globales de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir des 54 souches bactériennes isolées et selon la figure III.2.6, *Pseudomonas aeruginosa* a un taux d'isolement plus élevé 48% (26/54) par rapport aux autres souches bactériennes.

III.2.7 Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon le sexe

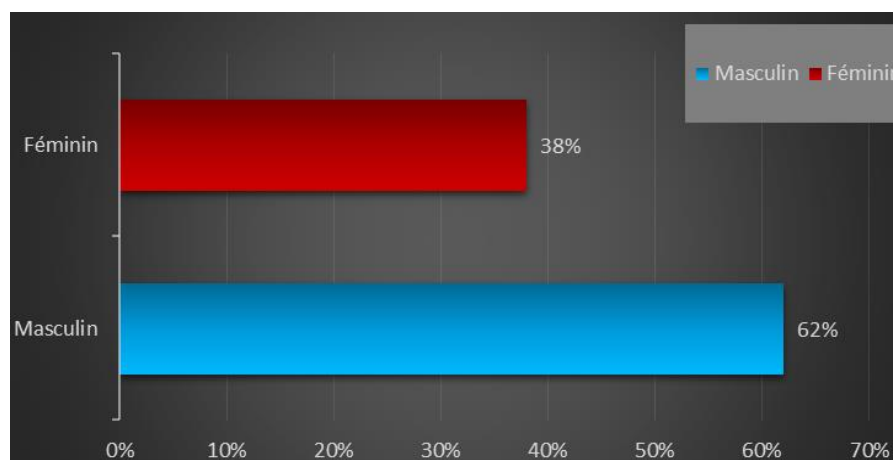


Figure III.2 6: Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon le sexe.

Sur les 26 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées, la répartition selon le sexe des patients montre une prédominance masculine avec une fréquence de 62% (figure III.2.7).

III.2.8 Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'âge des patients

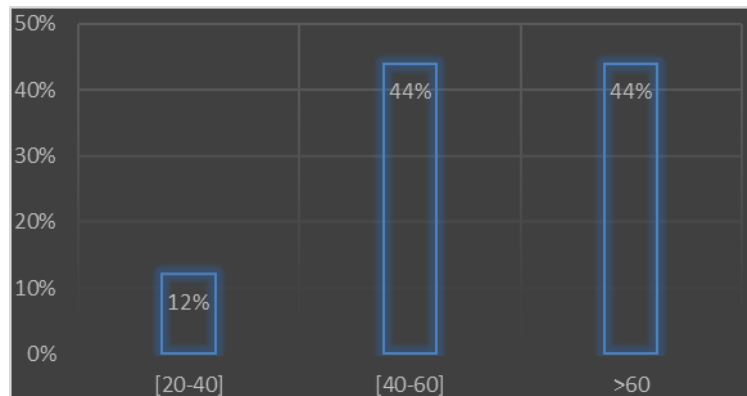


Figure III.2 7: Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'âge des patients.

L'âge moyen dans notre population était 59ans, les taux d'isolement les plus élevés sont observés dans les deux catégories d'âge de plus de 60ans (44%) et les patients ayant un âge entre [40ans-60ans] (44%) (Figure III.2 .7).

III.2.9 Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'origine de la demande d'analyse

La majorité ont été issue du service de pneumologie (22/26) alors que les prélèvements externes ont été très peu (04/26) (Figure III.2.8).

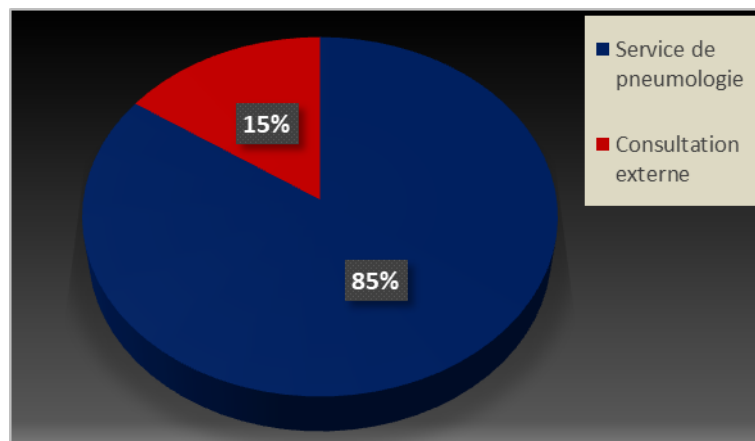


Figure III.2 8: Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'origine de la demande d'analyse.

85% des prélèvements ont été issus du service de pneumologie, alors que seulement 15% des prélèvements ont été issus de l'extérieure.

III.2.10 Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon la nature du prélèvement

L'isolement des souches de *Pseudomonas aeruginosa* a été réalisé à partir des prélèvements respiratoires à savoir crachats (17), drains thoraciques (08), liquides pleuraux (01). (Figure III.2.9).

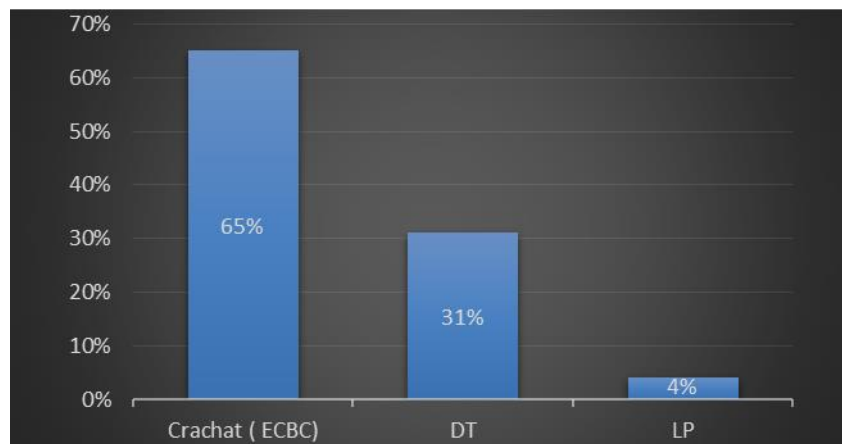


Figure III.2 9: Répartition de *Pseudomonas aeruginosa* selon la nature du prélèvement.

A partir de la figure on constate que la plupart des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées à partir des crachats avec un taux élevé 65% suivie des drains thoraciques 31%, alors que les liquides pleuraux présentent une très basse fréquence 04%.

III.2.11 Résultats globales des antibiogrammes

Après chaque isolement d'une espèce bactérienne, un antibiogramme a été réalisé afin de connaître le profil de résistance aux antibiotiques de chaque germe.

54 souches bactériennes ont été isolées, les antibiogrammes ont été réalisés selon le germe identifié, dont 26 antibiogrammes de *Pseudomonas aeruginosa* et le reste pour les autres germes identifiés (Figure III.2.10).

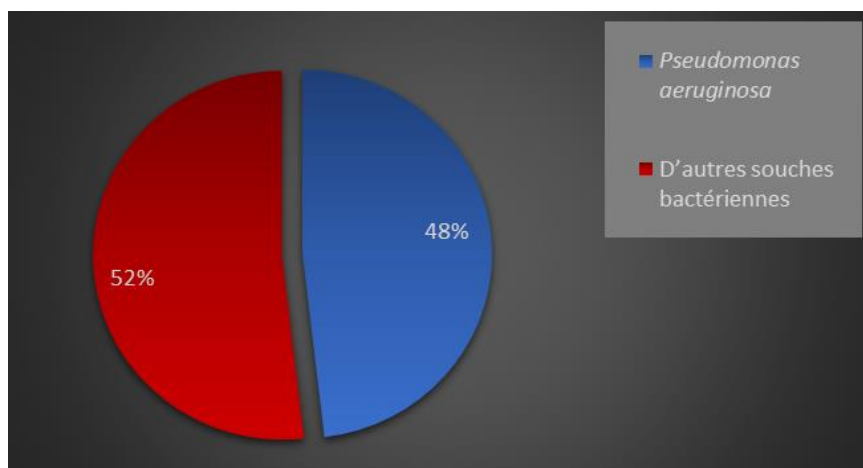


Figure III.2 10: Répartition des résultats globaux des antibiogrammes.

Les 26 isolats de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré différents niveaux de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés.

III.2.11.1 Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des bêta- lactamines

Lors de la réalisation de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*, six antibiotiques appartenant à la famille des bêtalactamines ont été testés. (Figure III.2.11)

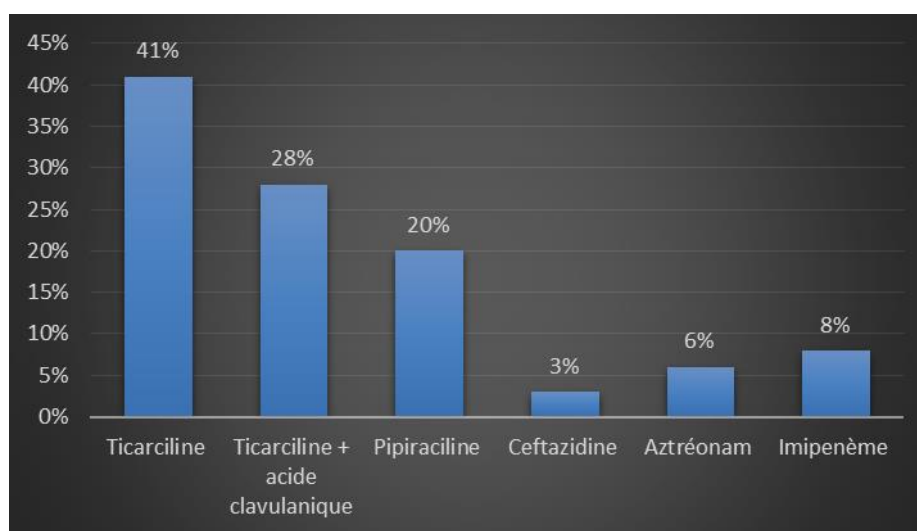


Figure III.2 11: Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des bêta- lactamines.

Le taux de résistance le plus élevé chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolés était vis-à-vis de la Ticarciline (41%).

III.2.11.2 Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des aminosides.

Quatre antibiotiques appartenant à la famille des aminosides ont été testés, il s'agit de Gentamicine, Tobramycine, Netilmicine et l'Amikacine (Figure III.2 12).

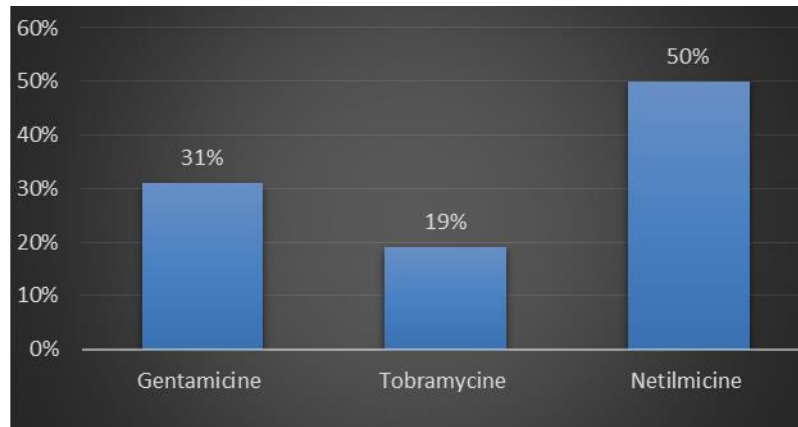


Figure III.2 12: Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des aminosides.

La majorité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolés présentent un taux de résistance très élevé vis-à-vis de la Netilmicine (50%).

III.2.11.3 Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des quinolones.

Durant la réalisation de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*, seulement deux antibiotiques de la famille des quinolones ont été testés, il s'agit de la Ciprofloxacine et Lévofloxacine (Tableau III.2.2).

Tableau III.2. 2: Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques appartenant à la famille des quinolones.

L'antibiotique	Nombre de souches testés	R	Pourcentage	I	pourcentage	S	Pourcentage
Ciprofloxacine	25 souches	00	00%	04	16%	21	84%
Lévofloxacine	22 souches	00	0%	00	00%	22	100%

A partir du tableau en conclue que la totalité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées ont été sensibles aux deux antibiotiques ; ciprofloxacine 84% (seulement 04 souche qui ont été intermédiaires), et ils sont 100% sensibles vis-à-vis de la lévofloxacine.

III.2.11.4 Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux autres antibiotiques

Six autres antibiotiques ont été testés dans l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*, il s'agit de la fosfomycine, la colistine, acide pipémidique, Triméthoprim + sulfaméthoxazole, prolactine et Doxycycline. (Figure III.2.13)

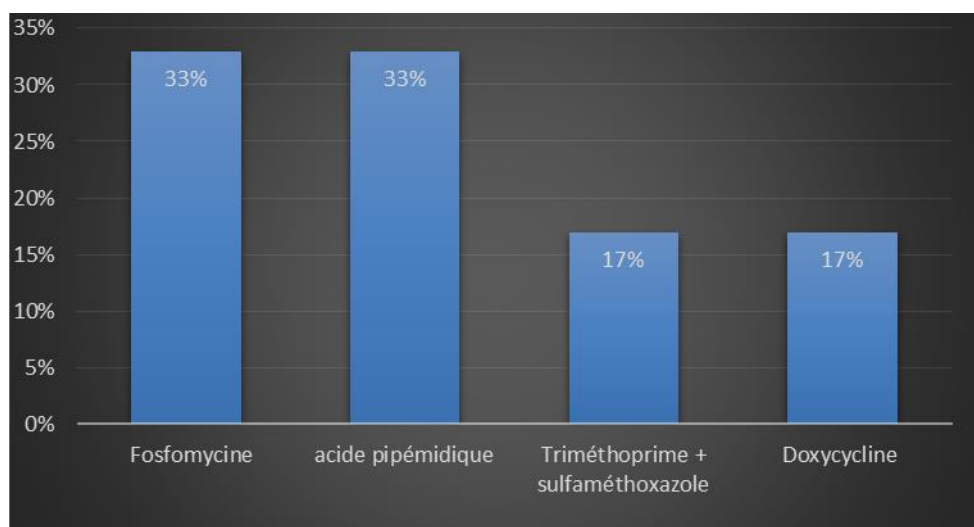


Figure III.2 13 : Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux autres antibiotiques.

Le taux de résistance le plus élevé chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolés était vis-à-vis de la fosfomycine et l'acide pipémidique (33%), alors que pour la colistine les souches isolées testés ont été sensibles.

III.2.11.5 Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa***Tableau III.2. 3:** Profils de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*.

	Antibiotiques										Nombre de souches
	NET	FOS	GN	PI	TCC	SXT	DO	IMP	TIC	TOB	
Profils	NET	FOS	GN	PI	TCC	SXT	DO	IMP	TIC	TOB	01
	CAZ	IMP	PRL	TCC	TIC						01
	PIP	NET	TIC	TOB							01
	ATM	TIC	PIP	TCC							01
	TOB	PIP	TC								01
	NET	IMP	TCC								01
	PRL	TCC	TIC								01
	PI	TCC	TIC								01
	GN	TCC	TIC								01
	ATM	TCC	TIC								01
	PRL	TC									01
	TIC	TCC									01
	TIC	PIP									01
	DO										01
	TIC										01
	NIT										04
	Total										20

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présente différents profils de résistance, seulement 4 souches représentent le même profil vis-à-vis de la nétilmicine.

III.2.12 Répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

III.2.12.1 Répartition selon le sexe

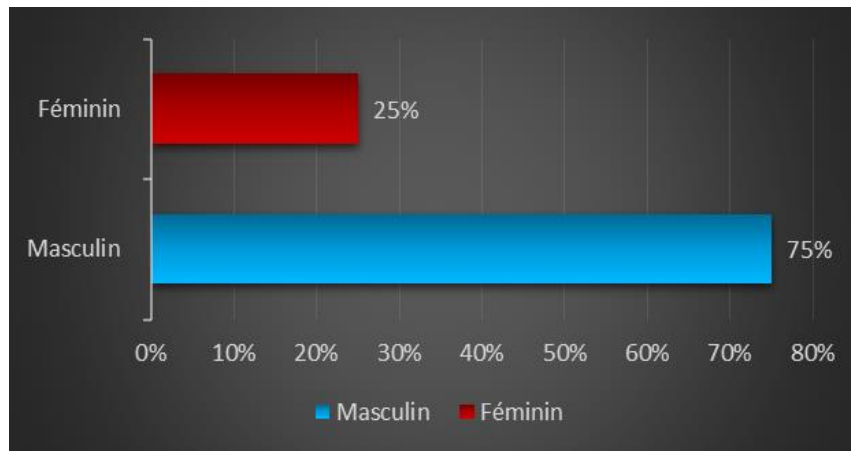


Figure III.2 14 : Répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* selon le sexe.

La répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* selon le sexe, montre une prédominance de la résistance chez le sexe masculin (75%), alors que la résistance chez le sexe féminin est très peu fréquente (Figure III.2.14).

III.2.12.2 Répartition selon l'âge

Sur les 20 souches résistantes aux antibiotiques, l'âge moyen de cette population est 60ans.

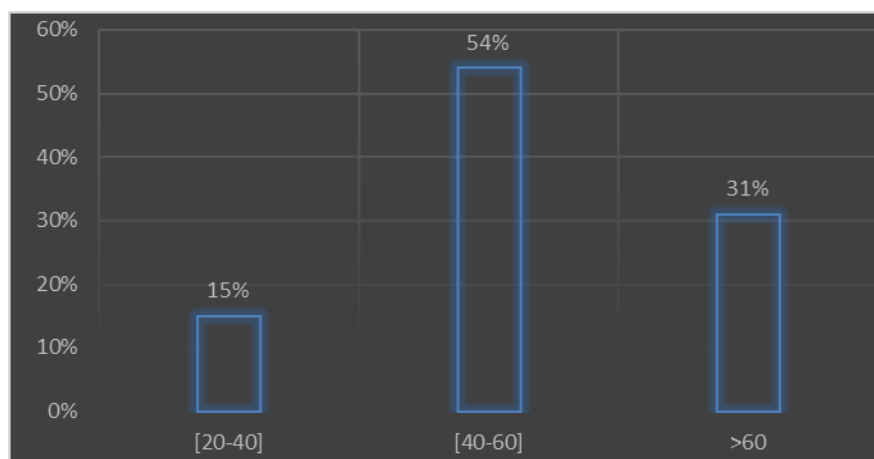


Figure III.2 15 : Répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'âge des patients.

La répartition de la résistance aux antibiotiques selon l'âge des patients montre un taux élevé chez les patients avec une tranche d'âge entre 40ans – 60ans (54%) (Figure III.2.15).

III.2.12.3 Répartition selon l'origine de la demande d'analyse

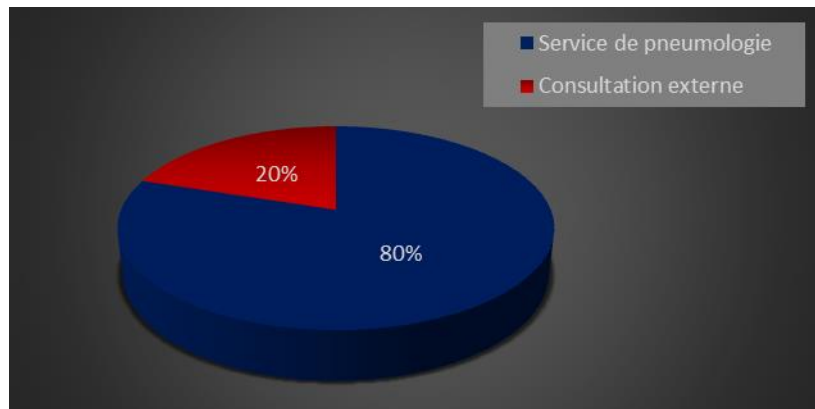


Figure III.2 16 : Répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'origine de la demande d'analyse.

La répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* montre un taux très élevé chez les souches isolées à partir des prélèvements issus du service de pneumologie (80%) par rapport aux prélèvements issus de l'extérieur (Figure III.2 16).

III.2.12.4 La répartition selon le type de prélèvement

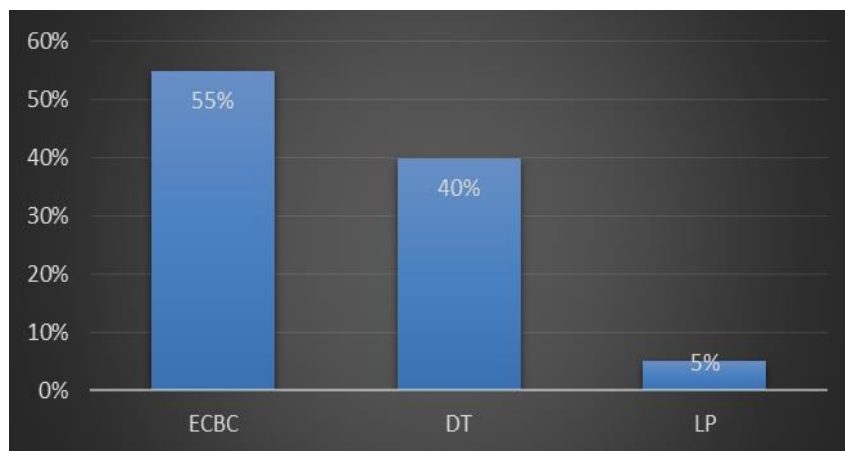


Figure III.2 17 : Répartition de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* selon la nature du prélèvement.

A partir des résultats obtenus, le taux de résistance aux antibiotiques selon le type de prélèvement est élevé dans l'analyse des crachats suivie des drains thoraciques, alors que les liquides pleuraux sont très peu (Figure III.2 17).

III.3 Discussion

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène humain opportuniste qui provoque principalement des infections nosocomiales chez les patients hospitalisés à savoir les infections graves des voies respiratoires (**Benabid., 2009**).

Pseudomonas aeruginosa occupe la 1^{ère} place par rapport aux autres souches isolées (26 souches) avec un pourcentage de 48%. Un taux relativement similaire a été trouvé dans une autre étude réalisée par (**Bourafa et al., 2018**) (42,8%).

Notre échantillon était composé principalement de patients de sexe masculins (59%).

Pseudomonas aeruginosa est beaucoup plus présente chez les patients de sexe masculin (62%), Cette fréquence est similaire à une autre étude réalisée au niveau de CHU Nîmes, France réalisé par (**Larcher et al., 2023**) (66,5%). Cependant cette souche n'a pas de tropisme particulier selon le sexe, ce dernier n'est donc pas un facteur déterminant au cours des infections respiratoires, des auteurs américains ont expliqué que la prédominance masculine peut être due à l'association des autres conditions tels que le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète ainsi que d'autres pneumopathies chroniques qui surviennent beaucoup plus chez l'homme (**Nizard et al. 1993**).

Dans notre étude, nous avons constaté que l'âge moyen des patients était de 59 ans. Cette constatation est cohérente avec les résultats de l'étude menée par **Larcher et al., 2023**, qui a également trouvé un âge moyen similaire. On a obtenu des taux d'isolement plus élevés dans les deux catégories d'âge à savoir celle de plus de 60ans (44%) et les patients ayant un âge compris entre [40ans-60ans] (44%). Une étude française de 2019 a trouvé des résultats similaires, montrant que les infections à *Pseudomonas* étaient plus fréquentes chez les patients âgés de 50 à 79 ans (**Leflon-Guibout et al., 2019**). Concernant la résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques, elle est plus importante chez les patients avec une tranche d'âge comprise entre 40ans – 60ans (54%). L'âge avancé pourrait être un facteur de risque à ne pas écarter dans l'acquisition des infections nosocomiales, cela peut être expliqué par la vulnérabilité de ces personnes (**Drieux., 2010**). En effet, ce sont généralement des sujets atteints d'une immunodépression due à des pathologies chroniques telles que le diabète, les atteints multi-viscérales de plus les patients atteints d'une mucoviscidose qui sont à risque de développer des infections respiratoires (**Biquand., 2017**).

En milieu hospitalier, l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa* est endémo-épidémique, variant selon le type de l'unité concernée, ce germe infecte surtout les sujets hospitalisés dans l'unité de pneumologie, service où le risque d'infection est important de

l'unité externe vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives. **(Van Eldere., 2003).**

Malgré un taux élevé (49%) des prélèvements pleuraux, seulement une souche *Pseudomonas aeruginosa* était isolée (4%), cela peut être expliqué par la prédominance d'autres infections qui sont beaucoup plus fréquentes dans ces prélèvements.

Toutefois les expectorations bronchiques représentent le 2ème type de prélèvement (43%) en termes de fréquence (vu la facilitée des techniques de recueil de ces sécrétions bronchiques), on a remarqué que les souches isolées chez ces patients présentaient le plus haut taux d'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* qui est de 65%, à cela s'ajoute une fréquence élevée de résistance aux antibiotiques de ces souches qui est de l'ordre de 55% isolé dans ce type de prélèvement.

Uniquement 8% des prélèvements étaient issus des drains thoraciques, cela peut être expliqué par le fait que ces derniers concernaient que les patients de chirurgie (service de pneumologie). Par ailleurs, une fréquence élevée de *Pseudomonas aeruginosa* été isolé (31%).

Des études algériennes ainsi que des études américaines et européennes ont montré que les voies aériennes sont les principaux sites d'isolement de cette bactérie **(Aghrouch et al., 2006).**

Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré des différents niveaux de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés. Toutes les bêtalactamines étaient touchées par la résistance, le taux de résistance le plus élevé était vis-à-vis de la Ticarciline 41% (13 souches /24), suivi de l'association Ticarciline + Acide clavulanique 28% (09/24), ensuite la Pipéracilline 20% (07/08), l'Imipénème 08% (03/25), l'Aztréonam 06% (02/19) et vers la fin Ceftazidime 03% (01/26). Ces taux de résistance sont similaires à l'étude réalisée par **Amouchach et al., 2021.** Mais ces résultats ne concordent pas avec l'étude réalisée au niveau de CHU Tizi Ouzou pendant l'année 2015, Au sein de la famille des bêtalactamines l'association Ticarciline + Acide clavulanique présente un pourcentage de résistance de 60,4% par rapport à l'ensemble des bêtalactamines testés, suivi respectivement par l'Aztréonam (32,9%), la Pipéracilline (19,3%), la Ceftazidime (15,9%), la Ticarciline et enfin l'Imipénème par un taux de résistance de 14%) **(Bourahla et al., 2015).**

La résistance de nos isolats envers ces antibiotiques pourrait être liée à la capacité du germe à acquérir divers mécanismes de résistance enzymatiques (hyperproduction de céphalosporinase chromosomique "Ampc" suite à une mutation de régulateur Ampc R,

bêtalactamases à spectre étendu), ou sont souvent associés à d'autres mécanismes de résistance tels que les mutations qui induisent des modifications de la cible, pompe à efflux et imperméabilité membranaires (**Qin et al., 2022**).

Dans notre étude les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées présentaient une résistance à la Netilmicine de l'ordre de 50% (08/13) suivi de la gentamicine 31% (5/19) et enfin la tobramycine 19% (3/22). Ces fréquences sont différentes de l'étude réalisée en Algérie en 2016 qui a montré des taux de résistance aux aminosides différents de ceux que nous avons trouvé ; 58,3% pour la gentamicine, 50% pour la tobramycine et 41,7% pour l'amikacine (**Amara et al., 2016**). Cette résistance pourrait être due à la production des enzymes de modification des aminosides, les rendant inactifs, les principales familles d'enzymes de modification des aminosides sont les phosphoryltransférases (APH), les acétyltransférases (AAC) et les nucléotidyltransférases (ANT) (**Moradali et al., 2017**).

Pour la famille des fluoroquinolones les souches testées ne sont pas résistantes à cette famille, car ils étaient majoritairement sensibles à la ciprofloxacine 84% (21/25) et à la Lévofloxacine 100% (22/22). Ce taux se rapprochent de l'étude de **Boutefnouchet et al., 2017** qui a rapporté des taux de sensibilité respectivement de 76% et 100%. La sensibilité relativement élevée de *Pseudomonas aeruginosa* aux fluoroquinolones dans notre étude pourrait être due à une sensibilité naturelle, ou bien au ciblage multiple car les fluoroquinolones ciblent à la fois l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, deux enzymes essentielles à la réplication bactérienne, cette action pourrait rendre plus difficile l'acquisition des mécanismes de résistance (**Moradali et al., 2017**).

D'autres résistances ont été identifiées chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de l'acide pipémidique (33%), avec un taux de 17% pour la doxycycline et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole. Ces résultats ne sont pas comparables à ceux rapportés dans une étude menée en 2012 dans un CHU d'Alger, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la doxycycline était de 38% et à l'acide pipémidique de 26% (**Bendjelloul et al., 2013**). La résistance aux tétracyclines pourrait être due à une mutation dans la cible de l'antibiotiques ribosomale. Efflux actif

Concernant la colistine, aucune des souches isolées testés ont été résistantes, même résultats obtenue par (**Sefroui et al., 2015**).

Conclusion

Pseudomonas aeruginosa remplit toutes les conditions pour demeurer longtemps un pathogène « à problème » par son fort potentiel d'adaptation au milieu environnemental et hospitalier. Ce caractère redoutable est dû en grande partie, au pouvoir toxique de ces agents infectieux, à ses multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques, son adaptabilité à l'hôte et sa prédilection pour les patients fragiles. L'entière de ces éléments constitue un problème majeur de santé publique.

C'est dans ce contexte qu'on a réalisé notre étude portant sur la place du *Pseudomonas aeruginosa* dans les infections pleuropulmonaires au CHU de Tizi Ouzou unité Sidi Belloua, qui vise à l'identification des caractères bactériologiques des souches isolées de divers prélèvements dans les deux services (pneumologie et externe) et à évaluer leurs fréquence d'isolement et leurs résistances aux antibiotiques, à la suite de notre étude, voici les résultats que nous avons obtenus :

Une fréquence relativement élevée de *Pseudomonas aeruginosa* été isolé (48%), principalement au niveau des expectorations bronchiques. Ces souches ont démontré des résistances aux antibiotiques touchant toutes les familles d'antibiotiques, principalement les bêtalactamines. Les degrés de résistance varient, avec des pourcentages de résistance de 41% pour la ticarcilline, 20% pour la pipéracilline, 8% pour l'imipénème, 6% pour l'aztréonam et 3% pour la ceftazidime. Il est important de noter que la résistance de ces souches est plus fréquente chez les patients âgés de 40 à 60 ans (54%) et chez les hommes.

Les souches étaient majoritairement sensibles à la ciprofloxacine 84% (21/25), à la Lévofloxacine 100% (22/22) et aucune des souches isolées testés ont été résistantes à la colistine.

La résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* représente un défi majeur dans le domaine de la santé. Pour faire face à cette résistance, il est essentiel d'adopter une approche de lutte globale et multidisciplinaire, comprenant la surveillance de la résistance, une utilisation prudente des antibiotiques, la mise en œuvre de mesures de prévention des infections, la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques, ainsi que l'exploration de thérapies alternatives.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aghrouch, M., *et al.* (2006). Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production de métallo- β -lactamases, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **36**(7) : 386-389.
- Amara, A., *et al.* "Antibiotic resistance and pathogenicity factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients hospitalized in intensive care units.", *African Journal of Microbiology Research* 10.48 (2016) : 2079-2086
- Amouchach, N., Benslmi, H., Boufrah, A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* et *acinetobacter bumannii* : caractéristiques épidémiologique et résistance aux antibiotiques. Mémoire de fin d'études. Université des freres mentouri. Constantine.
- Archambaud., Maryse., Clave., Danielle. (2008). Diagnostic bactériologique direct d'une infection. *Laboratoire de Bactériologie-Hygiène. Faculté de Médecine Toulouse-Rangueil, DCEM*, vol. 1, p. 6-7.
- Baculard, A. (1999). Conduite à tenir devant un épanchement pleural. *Encycl Méd Chir. Pédiatrie*, P 4-069.
- Barbier, F., Wolff, M. (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*-Vers l'impasse thérapeutique. *Médecine/sciences*, vol. 26, no 11, p. 960-968.
- Beaumont, A., P-Truchot, J., Du Pasquier, L. (1995). *Respiration -Circulation - Système immunitaire*. Paris : DUNOD.
- Benabid, R. (2009). Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Reims.
- Benabid, R. (2009). Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Paris.
- Bendjelloul, G., Azzag, N., Reggad, A, *et al.* (2013). Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans un CHU d'Alger. *Pathol Biol* ;61 :5-9
- Benlahouès, D. (2013). Anatomie et physiologie de l'appareil respiratoire. *L'aide-soignante*, 27(146), 10-12.
- Bensalem, H. (2020). Anatomie de la trachée. Cours de l'appareil cardio respiratoire. Université farhat abbas. Sétif.

Références bibliographiques

- Berdyev, D., Scapin, R., Labille, C., *et al.* (2011). Infections communautaires graves—Les pneumonies aiguës communautaires bactériennes de l'adulte. *Médecine Intensive Réanimation*, vol. 20, no Suppl. 2, p. 566-575.
- Berkane, I. (2020). La pneumonie bactérienne, virale et fongique. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri Constantine.
- Bernard, D. (2023). Cavité nasale et orale, ressources ProFuturo. <https://resources.profuturo.education/fr/ressource/cavites-nasale-et-orale-dictionnaire-visuel/3715f98c-8bf6-4a14-b044-add32df3b053>
- Berry, A. (2019). Premiers mécanismes de régulation d'exlBA, le facteur de virulence des souches de *Pseudomonas aeruginosa* de type PA7 : First regulatory mechanisms of exlBA, virulence factor of *Pseudomonas aeruginosa* PA7-like strains. Thèse de doctorat. Université Grenoble Alpes.
- Bessaguet, F., Desmouliere, A. (2021). Les poumons. *Actualités Pharmaceutiques*, vol. 60, no 603, p. 55-59.
- Biquand, A. (2017). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements. Thèse de doctorat. L'Université de Rennes 1.
- Blausen Gallery. (2023). *Anatomie de l'appareil respiratoire*, Microbiologie médicale. <https://microbiologiemedicale.fr/anatomie-appareil-respiratoire/>.
- Borsi, F. (2023). *Le pharynx*, Futura science. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-pharynx-6956/>.
- Bourafa, N., Chaalal, W., Bakour, S., Lalaoui, R., Boutefnouchet, N., Diene, SM, & Rolain, JM (2018). Caractérisation moléculaire des isolats cliniques de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes en Algérie. *Infection et pharmacorésistance*, 11, 735.
- Bourahla, N., Haddache, W. (2015). Etude de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015. Mémoire de fin d'étude. Université mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- Boutefnouchet, M. F. Z, Bakour, S., Meradji., S, *et al.* (2017). Première détection de *Pseudomonas aeruginosa* producteur de VIM-4 et de *Klebsiella pneumoniae* producteur d'OXA-48 dans le nord-est (Annaba, Skikda) de l'Algérie. *Résistance microbienne aux médicaments*, vol. 23, n° 3, p. 335-344.

Références bibliographiques

- Briand, L. (2017). *La physiologie de la perception gustative*. Pratiques en Nutrition : santé et alimentation, vol. 13, no 49, p. 10-13.
- Brinkman, JE., Sharma, S. (2020). *Cavités nasale et orale - Dictionnaire Visuel*. Physiologie, commande respiratoire, Île au trésor : StatPearls. Bernard Dery.2007.
- Cécile, M. (2021). *Microbiologie Clinique*. CHU de liège.
- Charline, D. (2018). Pleurésie. Santé sur le net. <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/pneumologie/pleuresie/>.
- Charline, D. (2023). *Cancer du larynx*. Santé sur le net. <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/cancer/cancer-du-larynx/>.
- Darghout, S., Metheni, A. (2016). Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans la région de Constantine. Université des Frères Mentouri. Constantine.
- Darmon, E., Leach, D RF. (2014). Bacterial genome instability. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 78, no 1, p. 1-39.
- Delavo, P., Fouyé, H. (1973). *Biologie clinique*. Paris : compiégnne DOIN editeurs.
- Demoré, B. (2018). "Traitement des infections respiratoires basses et hautes." *Pharmacie Clinique et Thérapeutique* : 801–814.e1. doi :10.1016/B978-2-294-75077-9.00044-X
- Denis, F., Ploy, MC., Martin, C., et al. (2007). Bactériologie médicale. Techniques usuelles. In : *2e éd Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson*.
- Denis, F., Poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. (2007). *Bactériologie médicale, technique usuelles*. Masson, Cedex. p. 333-335.
- Dey, S., Bachri, I. (2017). Traitement alternatif par le miel et la caseine de la souche résistante (*Pseudomonas aeruginosa* de la chauve-souris). Thèse de doctorat. Université ibn khaldoun TIARET.
- Diagne, A M. (2021). Etude du mécanisme de résistance aux peptides antimicrobiens médié par un transporteur ABC couplé à un système de régulation à deux composants chez *Streptococcus pneumoniae*. Thèse de doctorat. Université de Lyon.
- Diawara., Madioké, M. (2022). Aspects diagnostiques de l'hémothorax secondaire aux traumatismes fermés du thorax dans le service de chirurgie thoracique de l'Hôpital du Mali, Thèse de doctorat, USTTB.

Références bibliographiques

- Drieux, L. (2010). Caractéristiques des infections respiratoires basses chez les sujets âgés. *Antibiotiques*, 12(4), 190-196.
- Fekir, S. (2019). Réalisation d'une plateforme didactique pour l'étude de la spirométrie, thèse de master, université Abou Bekr Bellaid, Tlemcen.
- Ferre, A., Dres, M., Azarian, R. (2011). Pleurésies purulentes. *Revue de pneumologie clinique*, 6, 041.
- Flandrois, R., Brune, J., Wiesendanger, T. (1976). *Physiologie humaine- la respiration*. Loos-lez-Lille (Nord) : Simep-editions sur les presses de l'imprimerie L.P-F de L. Danel.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Mosby.
- Frank, H., Netter, MD. (2007). *Atlas d'anatomie humaine*, 5ème édition, édition d'Elsiver Masson. P, 0-548.
- Gellen dautremer, J. (2010). Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*. *Mise au point. Antibiotiques*, vol. 12, no 2, p. 75-81.
- Guilherme, P., Ramos, J., Felipe, L.R., Tuon, F. (2013). Seasonal humidity may influence *Pseudomonas aeruginosa* hospital-acquired infection rates. *International Journal of Infectious Diseases* ; 17(9) : 757-761.
- Haddadi, A. El Abidine, Z. (2013). Construction d'un score prédictif du risque nosocomial pour des patients de réanimation. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé-Lille II.
- Hamze, M., Dabboussi, F., Izard, D. (2004). Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : étude sur quatre ans (1998-2001) au nord du Liban. *Médecine et maladies infectieuses*. ; 34 :321-324.
- Hauser, AR., Ozer, EA. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*. *Nature Reviews Microbiology*.
- Khalifa., Ben Haj, A., Moissenet, D., THIEN., Hoang, V., et al. (2011). *Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa*, mécanismes et modes de régulations. In : *Annales de biologie clinique*. p. 393-403

Références bibliographiques

- Kipnis, E., Sawa, T., & Wiener-Kronish, J. (2006). Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Medecine et maladies infectieuses*, 36(2), 78-91.
- Kouasssi, B., Gode, C., Brou, J. Ahui, *et al.* (2016). Atteintes pleuropulmonaires au cours des maladies systémiques. *Revue des Maladies Respiratoires*, vol. 33, p. A247-A248.
- Kouira, C., Berkane, D. (2020). La pneumonie bactérienne, viral, fongique. Mémoire de fin d'études. Université des frères Mentour. Constantine. 06 P
- Kulpinski, C. (2016). Apprendre à respirer pour mieux vivre. Mémoire de fin d'études, Institut Supérieur de Naturopathie ISUPNAT.
- La charité, Claude. (2018). Les symptômes de la pleurésie dans la « Briefe Déclaration » et le « gualant Cl. Galen ». *L'Année rabelaisienne*, vol. 2018, no 2, p. 435-438.
- Larboui, D. (1977). *Précis de sémiologie pratique de l'appareil respiratoire*. Alger : SNED.
- Larcher, R., Pearson, J., Verardi, S., Karas, A., Pecini, R., & Marcella, S. (2023). Utilisation en vie réelle du céfidérocol dans l'Union Européenne et aux États-Unis pour le traitement de *Pseudomonas aeruginosa* : données intermédiaires de l'étude PROVE. *Médecine et Maladies Infectieuses Formation*, 2(2), S74.
- Leflon-Guibout, V et al. (2019). Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in French hospitals, One-day prevalence survey, May 2009, Euro Surveill.
- Léon, L., Michel, V. (1990). *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Paris : Flammarion édition. p. 567-73.
- Margaux, L. (2022). Etude du mécanisme d'efflux des pompes MexAB-OprM et MexXY-OprM chez *Pseudomonas aeruginosa*, pathogène multirésistant présent dans les poumons de patients mucoviscidose. *Biologie structurale [q-bio.BM]*. Université Paris.
- Martin, C. (2021). Synthèse et étude de nouveaux ligands d'ARN pour le ciblage des systèmes toxine-antitoxine : vers des nouvelles thérapies antibiotiques. Thèse de doctorat. Université Côte d'Azur.

Références bibliographiques

- Mcintosh, K., Russell, C. J. (2019). *Respiratory syncytial virus*. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (9th ed., pp. 2091-2107). Elsevier
- Memdouh, S., Reddaf, N. (2018). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire de fin d'études. Université frères Mentouri constantine.
- Menche, N. (2023). Biologie anatomie physiologie. 7^{ème} édition française, *Elsevier Health Sciences*, P304-319.
- Minchella, A., Molinari, L., Alonso, S., *et al.* (2010). Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie biologie*, vol. 58, no 1, p. 1-6.
- Moradali, MF., Ghods, S., Rehm, BHA. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle : A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Front Cell Infect Microbiol.* ;7 :39.
- Nizard, A., Munoz-Perez, F. (1993). *Alcool, tabac et mortalité en France depuis 1950. Incidence de la consommation d'alcool et de tabac sur la mortalité*. Population (french Edition) : 975-1014.
- Ouimet, B. (2022). Histoire de la biomédecine au québec : La physiologie cardio respiratoire à l'institut lavoisier de montréal (1950-1956).
- Qin, S *et al.* (2022). "Pseudomonas aeruginosa : pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics." *Signal transduction and targeted therapy* vol. 7,1 199.
- Ramos, J. L. (2011). *Pseudomonas*, génomique, mode de vie et architecture moléculaire (volume 1) : Kluwer academic/Plenum. P : 835.
- Richard, W., Light. (2021). *Présentation des maladies de la plèvre et du médiastin*, Vanderbilt université médical center.
- Sardi, S. (2021). Résistance au bêta-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et mécanismes moléculaires. Thèse de doctorat. Université de Marseille, faculté de pharmacie.
- Sefroui, I., Khelil, Ep. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien, Thèse de doctorat, Université Abou bekr belkaid, tlemcen.

Références bibliographiques

- Sobiesk, J L., Munakomi, S. (2019). *Anatomy, head and neck, nasal cavity*.
- Solbi, S. (2013). Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les Caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques. Thèse pour le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie : pharmacie. Rabat : Université Mohammed 5–souissi- . P6-11-12-13.
- Taha, M. J. (2022). La résection pulmonaire dans les pathologies non tumorales : Expérience du service de chirurgie thoracique Hôpital Avicenne Marrakech.
- Timbine, F. (2009). Aspects clinique et bactériologique de la pleurésie chez l'enfant dans le service de pédiatre du CHU Gabriel Toure, thèse de doctorat, Université de Bamako.
- Toumi, L., Ali, S. (2015). Les fosses nasales et cavités para nasales. Cours d'anatomie, faculté de médecine, Oran.
- Towner, K. J. (2019). In *Manual of Clinical Microbiology* (12th ed., pp. 914-929). American Society of Microbiology
- Towner, KJ., & Chopade, BA. (1987). Biotypage d'*Acinetobacter calcoaceticus* à l'aide du système API 2ONE. *Journal of Hospital Infection*, 10 (2), 145-151.
- Van Eldere, J. (2003). Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(2) : 347-352.
- Weihui, W., Yongxin, J., Fang, B. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In : Molecular medical microbiology. Academic Press, p. 753-767.
- Wilson, MG., Pandey, S. (2022). *Pseudomonas Aeruginosa*. In : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing ; 2023 Jan–. PMID : 32491763. (Article ncbi)
- Zouikri, S., Atmani, N., Laggoune, S. (2012). Le diagnostic serologique en bacteriologie. Mémoire de fin d'études. Université de Jije

ANNEXES

Annexe 01 : Les matériels utilisés.

Instruments et Equipement	Milieux	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Bec bunsen - Microscope - Etuve - Une jarre - Réfrigérateurs - Vortex - Anse de platine - Pipettes pasteurs - Lames et lamelles - Boîtes de pétri - Portoir - Ecouvillons - Pincés - Distributeurs d'ATB - Cellule de Malassez - Seringue stérile - Galerie biochimique (API 20E, API 20 NE) - Pied à coulisse - Pince en bois 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu Hektoen - Gélose Nutritive - Milieu Chapman - Gélose au sang cuit - Gélose au sang frais - Milieu Mueller-Hinton - Bouillon BHIB - Milieu Sabouraud - Bouillon d'hémoculture. 	<ul style="list-style-type: none"> - Bleu de Méthylène - Violet de Gentiane - Lugol - Alcool - Fuchsine - May Grunwald - Giemsa - Disque d'oxydase - Réactif de catalase (H₂O₂) - Huile de paraffine - Réactif de Griess (NIT1+ NIT2) - Réactif James - Réactif Kovacs - Réactif TDA (perchlorure de fer) - NaOH ou KOH (VP1) - Alpha- Naphtol (VP2) - Disques d'antibiotiques - L'eau distillée

Annexe 02 : Composition des milieux.

Gélose Nutritive

- Extrait de viande : 1,0 g/L
- Extrait de levure : 2,5 g/L
- Peptone : 5,0 g/L
- Chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Agar-agar : 15,0 g/L

pH = 7,0

Gélose Mueller-Hinton

- Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- Peptone de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 17,0 g

PH = 7,4

Gélose Sabouraud

- Peptone : 10 g
- Glucose massé : 20 g
- Agar-agar : 15 g
- Eau distillée (qsp) : 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance

pH = 6,0

Gélose Hektoen

- protéose-peptone : 12,0 g
- extrait de levure : facteur de croissance 3,0 g
- lactose : critère de différenciation 12,0 g
- saccharose : critère de différenciation 12,0 g

Annexes

- salicine : critère de différenciation 2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S 1,5 g
- sels biliaires : inhibiteur 9,0 g
- fuchsine acide : inhibiteur 0,1 g
- bleu de bromothymol : indicateur de pH 0,065 g
- chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- Thiosulfate de sodium : précurseur d'H₂S 0 g
- Agar : 14,0 g

pH = 7,5 ± 0,2

GSF

- Mélange spécial de peptones : 23 grammes,
- amidon : 1 g,
- chlorure de sodium : 5 g,
- agar : 10 g,
- sang : 50 ml.

PH : 7,3.

GSC

- Mélange spécial de peptones : 23 grammes,
- amidon : 1 g,
- chlorure de sodium : 5 g,
- agar : 10 g,
- sang : 50 mL.

PH : 7,3.

BHIB (bouillon cœur-cervelle)

- Protéose-peptone : 10,0 g
- Infusion de cervelle de veau : 12,5 g

Annexes

- Infusion de cœur de bœuf : 5,0 g
- Glucose : 2,0 g
- Chlorure de sodium : 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium : 2,5 g

PH = 7,4

Annexes

Annexe 03 : les disques d'antibiotiques utilisés dans l'identification de *pseudomonas aeruginosa* selon CLSI.

CARBAPENEMS								
B	Doripenem	10 µg	≥ 19	16–18 ^A	≤ 15	≤ 2	4 ^A	≥ 8
B	Imipenem	10 µg	≥ 19	16–18 ^A	≤ 15	≤ 2	4 ^A	≥ 8
B	Meropenem	10 µg	≥ 19	16–18 ^A	≤ 15	≤ 2	4 ^A	≥ 8
O	Colistin or polymyxin B	–	–	–	–	–	≤ 2	≥ 4
							≤ 2	≥ 4
Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL		
			S	I	R	S	I	R
PENICILLINS								
O	Piperacillin	100 µg	≥ 21	15–20 ^A	≤ 14	≤ 16	32–64 ^A	≥ 128
β-LACTAM COMBINATION AGENTS								
A	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 21	15–20 ^A	≤ 14	≤ 16/4	32/4–64/4 ^A	≥ 128/4
B	Ceftazidime-avibactam	30/20 µg	≥ 21	–	≤ 20	≤ 8/4	–	≥ 16/4
B	Ceftolozane-tazobactam	30/10 µg	≥ 21	17–20 ^A	≤ 16	≤ 4/4	8/4 ^A	≥ 16/4
O	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥ 24	16–23 ^A	≤ 15	≤ 16/2	32/2–64/2 ^A	≥ 128/2
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								
A	Ceftazidime	30 µg	≥ 18	15–17 ^A	≤ 14	≤ 8	16 ^A	≥ 32
B	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17 ^A	≤ 14	≤ 8	16 ^A	≥ 32
Inv.	Cefiderocol	30 µg	≥ 18	13–17 ^A	≤ 12	≤ 4	8 ^A	≥ 16
MONOBACTAMS								
B	Aztreonam	30 µg	≥ 22	16–21 ^A	≤ 15	≤ 8	16 ^A	≥ 32

Annexes

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL		
			S	I	R	S	I	R
AMINOGLYCOSIDES								
A	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13–14 ^A	≤ 12	≤ 4	8 ^A	≥ 16
A	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13–14 ^A	≤ 12	≤ 4	8 ^A	≥ 16
B	Amikacin	30 µg	≥ 17	15–16 ^A	≤ 14	≤ 16	32 ^A	≥ 64
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13–14 ^A	≤ 12	≤ 8	16 ^A	≥ 32
FLUOROQUINOLONES								
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 25	19–24 ^A	≤ 18	≤ 0.5	1 ^A	≥ 2
B	Levofloxacin	5 µg	≥ 22	15–21 ^A	≤ 14	≤ 1	2 ^A	≥ 4
O	Lomefloxacin	10 µg	≥ 22	19–21 ^A	≤ 18	≤ 2	4 ^A	≥ 8
O	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16
O	Ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15 ^A	≤ 12	≤ 2	4 ^A	≥ 8
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17 ^A	≤ 14	≤ 2	4 ^A	≥ 8

NB : Dans le cas où on n'est pas sûr de la souche étudiée on utilise de plus les antibiotiques d'entérobactérie pour la réalisation de l'antibiogramme selon CLSI.

A	Cefazolin	30 µg	≥ 23	–	20–22	≤ 19	≤ 2	–	4	≥ 8
U	Cefazolin	30 µg	≥ 15	–	–	≤ 14	≤ 16	–	–	≥ 32
C	Ceftaroline	30 µg	≥ 23	–	20–22 ^A	≤ 19	≤ 0.5	–	1 ^A	≥ 2

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm				Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL			
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
PENICILLINS										
A	Ampicillin	10 µg	≥ 17	–	14–16 ^A	≤ 13	≤ 8	–	16 ^A	≥ 32
O	Piperacillin	100 µg	≥ 21	–	18–20 ^A	≤ 17	≤ 16	–	32–64 ^A	≥ 128
O	Mecillinam	10 µg	≥ 15	–	12–14 ^A	≤ 11	≤ 8	–	16 ^A	≥ 32
β-LACTAM COMBINATION AGENTS										
B	Amoxicillin-clavulanate	20/10 µg	≥ 18	–	14–17 ^A	≤ 13	≤ 8/4	–	16/8 ^A	≥ 32/16
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 15	–	12–14 ^A	≤ 11	≤ 8/4	–	16/8 ^A	≥ 32/16
B	Ceftolozane-tazobactam	30/10 µg	≥ 21	–	18–20 ^A	≤ 17	≤ 2/4	–	4/4 ^A	≥ 8/4
B	Ceftazidime-avibactam	30/20 µg	≥ 21	–	–	≤ 20	≤ 8/4	–	–	≥ 16/4
B	Meropenem-vaborbactam	20/10 µg	≥ 18	–	15–17 ^A	≤ 14	≤ 4/8	–	8/8 ^A	≥ 16/8
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 21	–	18–20 ^A	≤ 17	≤ 16/4	–	32/4–64/4 ^A	≥ 128/4
O	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥ 20	–	15–19 ^A	≤ 14	≤ 16/2	–	32/2–64/2 ^A	≥ 128/2

Annexes

CEPHEMS (ORAL)										
B	Cefuroxime	30 µg	≥23	–	15–22 ^A	≤14	≤4	–	8–16 ^A	≥32
U	Cefazolin (surrogate test for oral cephalosporins and uncomplicated UTIs)	30 µg	≥15	–	–	≤14	≤16	–	–	≥32
O	Loracarbef	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
O	Cefaclor	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
O	Cefdinir	5 µg	≥20	–	17–19 ^A	≤16	≤1	–	2 ^A	≥4
O	Cefixime	5 µg	≥19	–	16–18 ^A	≤15	≤1	–	2 ^A	≥4
O	Cefpodoxime	10 µg	≥21	–	18–20 ^A	≤17	≤2	–	4 ^A	≥8
CEPHEMS (ORAL) (Continued)										
O	Cefprozil	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤4	–	8 ^A	≥16
Inv.	Ceftibuten	30 µg	≥21	–	18–20 ^A	≤17	≤8	–	16 ^A	≥32
MONOBACTAMS										
C	Aztreonam	30 µg	≥21	–	18–20 ^A	≤17	≤4	–	8 ^A	≥16
CARBAPENEMS										
B	Cefepime	30 µg	≥25	19–24	–	≤18	≤2	4–8	–	≥16
B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg	≥26	–	23–25 ^A	≤22	≤1	–	2 ^A	≥4
B		30 µg	≥23	–	20–22 ^A	≤19	≤1	–	2 ^A	≥4
B	Cefotetan	30 µg	≥16	–	13–15 ^A	≤12	≤16	–	32 ^A	≥64
B	Cefoxitin	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
B	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
C	Ceftazidime	30 µg	≥21	–	18–20 ^A	≤17	≤4	–	8 ^A	≥16
O	Cefamandole	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
O	Cefmetazole	30 µg	≥16	–	13–15 ^A	≤12	≤16	–	32 ^A	≥64
O	Cefonicid	30 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤8	–	16 ^A	≥32
O	Cefoperazone	75 µg	≥21	–	16–20	≤15	≤16	–	32	≥64
O	Ceftizoxime	30 µg	≥25	–	22–24 ^A	≤21	≤1	–	2 ^A	≥4
O	Moxalactam	30 µg	≥23	–	15–22 ^A	≤14	≤8	–	16–32 ^A	≥64

Annexes

CARBAPENEMS (Continued)										
B	Meropenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4
LIPOPEPTIDES										
B	Doripenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4
B	Ertapenem	10 µg	≥22	–	19–21	≤18	≤0.5	–	1	≥2
B	Imipenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4

MACROLIDES										
Inv.	Azithromycin	15 µg	≥13	–	–	≤12	≤16	–	–	≥32

TETRACYCLINES										
A	Gentamicin	10 µg	≥15	–	13–14 ^A	≤12	≤4	–	8 ^A	≥16
A	Tobramycin	10 µg	≥15	–	13–14 ^A	≤12	≤4	–	8 ^A	≥16
B	Amikacin	30 µg	≥17	–	15–16 ^A	≤14	≤16	–	32 ^A	≥64
O	Kanamycin	30 µg	≥18	–	14–17 ^A	≤13	≤16	–	32 ^A	≥64
O	Netilmicin	30 µg	≥15	–	13–14 ^A	≤12	≤8	–	16 ^A	≥32
O	Streptomycin	10 µg	≥15	–	12–14 ^A	≤11	–	–	–	–
O	Colistin or polymyxin B		–	–	–	–	–	–	≤2 ^A	≥4

AMINOGLYCOSIDES

C	Tetracycline	30 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤4	–	8	≥16
O	Doxycycline	30 µg	≥14	–	11–13	≤10	≤4	–	8	≥16
O	Minocycline	30 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤4	–	8	≥16
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for Enterobacterales except <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)										
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥26	–	22–25 ^A	≤21	≤	–	0.5 ^A	≥1
B	Levofloxacin	5 µg	≥21	–	17–20 ^A	≤16	0.25 ≤ 0.5	–	1 ^A	≥2
O	Cinoxacin	100 µg	≥19	–	15–18 ^A	≤14	≤16	–	32 ^A	≥64
O	Enoxacin	10 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤2	–	4 ^A	≥8
O	Gatifloxacin	5 µg	≥18	–	15–17 ^A	≤14	≤2	–	4 ^A	≥8
O	Gemifloxacin	5 µg	≥20	–	16–19	≤15	≤ 0.25	–	0.5	≥1
O	Grepafoxacin	5 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤1	–	2	≥4
O	Lomefloxacin	10 µg	≥22	–	19–21 ^A	≤18	≤2	–	4 ^A	≥8
O	Nalidixic acid	30 µg	≥19	–	14–18	≤13	≤16	–	–	≥32
O	Norfloxacin	10 µg	≥17	–	13–16	≤12	≤4	–	8	≥16
O	Ofloxacin	5 µg	≥16	–	13–15 ^A	≤12	≤2	–	4 ^A	≥8
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥19	–	16–18 ^A	≤15	≤2	–	4 ^A	≥8

Annexes

QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.) (Continued)										
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥31	-	21-30 ^A	≤20	≤0.06	-	0.12-0.5 ^A	≥1
B	Levofloxacin	-	-	-	-	-	≤0.12	-	0.25-1 ^A	≥2
O	Ofloxacin	-	-	-	-	-	≤0.12	-	0.25-1 ^A	≥2
Inv.	Pefloxacin (surrogate test for ciprofloxacin)	5 µg	≥24	-	-	≤23	-	-	-	-
FOLATE PATHWAY ANTAGONISTS										
B	Trimethoprim- sulfamethoxazole	1.25/ 23.75 µg	≥16	-	11-15	≤10	≤2/38	-	-	≥4/76
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥17	-	13-16	≤12	≤256	-	-	≥512
U	Trimethoprim	5 µg	≥16	-	11-15	≤10	≤8	-	-	≥16
PHENICOLS										
C	Chloramphenicol	30 µg	≥18	-	13-17	≤12	≤8	-	16	≥32
FOSFOMYCINS										
U	Fosfomicin	200 µg	≥16	-	13-15	≤12	≤64	-	128	≥256
NITROFURANS										
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥17	-	15-16	≤14	≤32	-	64	≥128

Annexe 04 : analyses cytologiques.

Examen à l'état frais

- Remplir par capillarité avec le prélèvement pathologique la cellule de Malassez
Préalablement recouverte d'une lamelle
- Attendre quelques minutes pour permettre le dépôt des cellules
- Placer sur un microscope optique à l'objectif x 40
- Compter le nombre de cellules (hématies, éléments blancs)

Étapes de la coloration au bleu de méthylène

- Préparation du frottis :
 - A l'aide de l'anse de platine, on se basant sur la partie purulente, on dépose un échantillon sur la lame de verre préalablement dégraissée.
 - L'étaler ensuite sur la lame du centre vers l'extérieur en une couche mince et homogène
 - Sécher et fixer le frottis en 2 ou 3 passages à la flamme d'un bec Bunsen
 - Laisser refroidir avant d'entamer la coloration
- Coloration :
 - Placer la lame sur un support de coloration et l'inonder de bleu de méthylène.
 - Couler une solution du bleu de méthylène sur le frottis
 - Laisser un temps de contact de 1 à 10 min
 - Rincer la lame à l'eau du robinet
 - Sécher entre deux feuilles de papier buvard
 - Observer au microscope photonique, au Gx100 à l'immersion
 - Les structures colorables apparaissent bleues

Étapes de la coloration de May Grunwald et Giemsa (MGG)

- Préparation du frottis :
 - Déposer une goutte du prélèvement sur la lame de verre préalablement dégraissée.
 - L'étaler ensuite sur la lame du centre vers l'extérieur en une couche mince et homogène
 - Sécher et fixer le frottis en 2 ou 3 passages à la flamme d'un bec Bunsen
 - Laisser refroidir avant d'entamer la coloration

Annexes

- Coloration :
 - Couvrir la lame du colorant May Grunwald dilué au ½ en eau neutre durant une minute.
 - Laisser agir 3 minutes
 - Egoutter et rincer à l'eau
 - Couvrir avec le colorant Giemsa dilué au 1/10 et laisser agir 20 minutes
 - Egoutter, rincer puis sécher
 - Observer au microscope photonique, au Gx100 à l'immersion
 - Donner la proportion de chacun des types de globules blancs.

Annexe 05 : Analyses microbiologiques.

Etapas de l'état frais après isolement

- Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame dégraissée
- A l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie isolée à partir du milieu de culture
- Dissoudre la colonie dans la goutte d'eau distillée
- Recouvrir la goutte d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air
- Observer immédiatement au microscope optique à l'objectif x40.

Etapas de la coloration de gram

- Préparation du frottis :
 - Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame
 - A l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie isolée à partir du milieu de culture
 - Dissoudre la colonie dans la goutte d'eau distillée
 - L'étaler ensuite sur la lame du centre vers l'extérieur en une couche mince et homogène
 - Sécher et fixer le frottis en 2 ou 3 passages à la flamme d'un bec Bunsen
- Coloration :
 - Recouvrir le frottis avec le colorant primaire : le violet de gentiane
 - Laisser agir 1mn.
 - Rejeter le colorant. Sans laver, recouvrir avec le Lugol (fixateur) ; Laisser agir 45 secondes.
 - Rejeter le Lugol, et recouvrir une seconde fois avec le Lugol, ; laisser agir 45 secondes.
 - Décolorer à l'alcool pendant 30 secondes.
 - Rincer à l'eau courante afin de neutraliser l'action de l'alcool.
 - Recouvrir le frottis avec la fuschine et laisser agir 1mn.
 - Laver à l'eau courante jusqu'à ce que les eaux de rinçage ressortent claires.
 - Sécher la lame, et observer à l'immersion (G×1000).

Annexe 06 : Analyses biochimiques.

Etapes du test de l'oxydase

- Déposer un disque d'oxydase sur une lame, l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ;
- Prélever une colonie sur un milieu gélosé avec une pipette pasteur et la déposer sur le disque.
- Frotter doucement la colonie sur le disque

Etapes du test de la catalase

- Déposer sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène)
- Prélever une colonie isolée à l'aide d'une pipette pasteur
- Dissocier la colonie dans la goutte

La galerie API20

- API 20E :

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Doit être utilisé avec des *Enterobacteriaceae* et/ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux

- API 20 NE :

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

⇒ Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (La préparation de l'API 20 "voir annexe 12")

❖ Lecture :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs : (voir annexe 13)

- API 20E :
 - Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive
 - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive
 - Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive
 - API 20 NE :
 - Test NO₃ : ajouter une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2. Après 5min une couleur rouge indique une réaction positive
 - Test TRP : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans la cupule indique une réaction positive.
- ⇒ Les tests d'assimilations : observer la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive. Des pousses d'intensité é intermédiaire peuvent être observées et notées plus au moins.

Préparation de la Galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation)
- Sortir la galerie de son emballage individuel
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (API 20 NE) ou un tube d'eau physiologique stérile (API 20E)
- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé

Annexes

- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans de l'eau physiologique.

Inoculation de la galerie :

- À l'aide d'une aiguille stérile, prélever une quantité de la suspension bactérienne puis remplir :
 - Les tubules et les cupules des tests du type CIT, VP, PAC et GEL
 - Les tubules des tests du type ADH, LDC, ODC, H₂S, URE et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.
 - Uniquement les tubules des tests restants
- Refermer la galerie avec son couvercle
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Remarque : il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire (GAZ+)

Annexe 07 : Table de lecture de l'API 20 NE et l'API 20E.

H ₂ S	sodium thiosulfate / Natriumthiosulfat / tiosulfato sódico / tiosulfato di sodio / Tiosulfato de sódio / θειοθειικό νάτριο / natriumthiosulfat / tiosiarczan sodowy	0,075	production d'H ₂ S / H ₂ S production / H ₂ S-Bildung / producción de H ₂ S / produzione di H ₂ S / Produção de H ₂ S / παραγωγή H ₂ S / H ₂ S-bildning / H ₂ S produktion / wytwarzanie H ₂ S	incoloro - grisâtre / colorless - greyish / farblos - gräulich / incoloro - grisáceo / incoloro - grigiastro / incoloro - acinzentato / άχρωμο - γκριζωπό / färglös - gråaktig / farvelos - grållig / bezbarwny - szarawy	dépot noir - fin liseré / black deposit - thin line / schwarzer Niederschlag / depósito negro - fin liserado / depositio nero - orlo sottile / depósito negro - orla fina / μαύρο υπόλειμμα - λεπτή γραμμή / svart avlagring - tunn linje / sort aflejring - tynd stribe / czarny osad - rozplynięta linia
URE	Urée / urea / Harnstoff / Ureia / ουρία / urinämne / mocznik	0,76	UREase / UREasa / UREasi / ουρεάση / UREas / ureaza	Jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / amarelo / κίτρινο / gul / ζόλτι	rouge - orangé / red-orange / rot - orange / rojo - anaranjado / rosso - arancio / vermelho - alaranjado / ερυθρό - πορτοκαλί / röd - orange / rot - orange / czerwony - pomarańczowy (2)
TDA	L-tryptophane / L-Tryptophan / L-triptófano / L-triptofano / L-τρυπτοφάνη / L-tryptofan	0,38	Tryptophane DésAminase / Tryptophane DeAminase / Tryptophan DesAminase / Τριπτοφano DesAminasa / Triptofano DeAminasi / Triptofano DesAminase / Δεαμινάση της Τρυπτοφάνης / Tryptofan-deaminas / Tryptofan DeAminase / dezaminaza tryptofanu	Jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / amarelo / κίτρινο / gul / ζόλτι	<u>TDA-immédiat / TDA-immediate / TDA-sofort / TDA-immediato / TDA-inediatio / TDA-άμεσο / TDA-omedelbar / TDA-umiddelbar / TDA-natychmiast</u> marron-rougeâtre / reddish brown / rotbraun / marrón-rojizo / marrone-rossastro / castanho - avermelhado / κοκκινωπό καφέ / rödbrun / rotbrun / czerwono-brązowy
IND	L-tryptophane / L-Tryptophan / L-triptófano / L-triptofano / L-τρυπτοφάνη / L-tryptofan	0,19	production d'INDole / INDole production / INDol-Bildung / producción de INDole / produzione di INDole / Produção de INDol / Παραγωγή ινδόλης / INDol-bildning / INDol produktion / wytwarzanie indolu	Inclore-vert pâle-jaune / colorless - pale green-yellow / farblos - hellgrün-gelb / incoloro - verde pálido-amarillo / incoloro - verde chiaro-giallo / incolor - verde pálido-amarelo / άχρωμο - ανοιχτό πράσινο-κίτρινο / färglös - ljusgrön-gul / farvelos - lysegrön-gul / bezbarwny - jasno zielony-żółty	rose / pink / rosa / róźno / lyserad / różowy

Annexes

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 5 min</u>	
				incolore	rose-rouge
			réduction des Nitrates en azote	<u>Zn / 5 min</u>	
				rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptOPhane)	<u>JAMES / immédiat</u>	
				incolore vert pâle / jaune	rose
<u>GLU</u>	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolyase	jaune	orange / rose / rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
<u>GLU</u>	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
<u>MNE</u>	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
<u>NAG</u>	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
<u>MAL</u>	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
<u>GNT</u>	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GLUCoNaTe)	transparence	trouble
<u>CAP</u>	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
<u>ADI</u>	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
<u>MLT</u>	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
<u>CIT</u>	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
<u>PAC</u>	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Annexes

TESTS / TEST / TESTES / ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ / TESTER	COMPOSANTS ACTIFS / ACTIVE INGREDIENTS / AKTIVE BESTANDTEILE / COMPONENTES ACTIVOS / SUBSTRATI / COMPONENTES ACTIVOS / ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ / AKTIVA INGREDIENSER / AKTIVE INDHOLDSTOFFER / AKTYWNE SKŁADNIKI	QTE / QTY / MENGE / CANTIDAD / Q.TA' / QTD / ΠΟΣ. / MÅNGD / MÆNGDE / STĚŽENIE / (mg/cup. / mg/vert. / mg/kup. / mg/kum. / mg/kup. / mg/brand / mg/probówka)	REACTIONS-ENZYMES / REAKTIONE-ENZYME / REACCIONES-ENZIMAS / REAZIONI-ENZIMI / REACÇÕES-ENZIMAS / ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ-ΕΝΖΥΜΑ / REAKTIONER-ENZYMER / REAKTIONER/ENZYMER / REAKCJE/ENZYMY	RESULTATS / RESULTS / ERGEBNISSE / RESULTADOS / RISULTATI / RESULTADOS / ΑΝΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ / RESULTAT / RESULTATER / WYNIKI	
				NEGATIF / NEGATIVE / NEGATIV / NEGATIVO / ΑΡΗΘΙΚΟ / NEGATIVT / NEGATYWNY	POSITIF / POSITIVE / POSITIV / POSITIVO / ΘΕΤΙΚΟ / POSITIVT / POZYTYWNY
VP	sodium pyruvate / Natriumpyruvat / piruvato sódico / piruvato di sodio / Piruvato de sódio / πυροϋξικό νάτριο / natriumpyruvat / pirogronian sodu	1,9	production d'acétoïne / acetoin production / Acetoinbildung / producción de acetoina / produzione di acetoina / Produção de acetoina / παραγωγή ακετοΐνης / acetoinbildung / acetoinandannelse / wytwarzanie acetoiny (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min / VP 1 + VP 2 / 10 λεπτά incolore - rose pâle / colorless - pale pink / farblos - blassrosa / Incolore / rosa pálido / incolore - rosa chiaro / Incolor / rosa - pálido / Άχρωμο / ανοιχτό ρόδινο / färglös - ljusrosa / farvelos - bleg lyserod / Bezbarwny - blade różowy	
GEL	Gélatine (origine bovine) / Gelatin (bovine origin) / Gelatine (bovinen Ursprungs) / Gelatina (origen bovino) / gelatina (origine bovina) / Gelatina (origem bovina) / Ζελατίνη (βοείου προέλευσης) / Gelatin (av nöt) / Gelatine (okse-oprindelse) / żelatyna (wołowa)	0,6	Gélatinase (GELatine) / GELatinase / Gelatinase (GELatine) / Gelatinasa (GELatina) / GELatinasi / Ζελατινάση / GELatinas / GELatinase / żelatynaza	non diffusion / no diffusion / keine diffusion / no difusión / nessuna diffusione / não difusão / μη διάχυση / ingen spridning / ingen diffusion / brak dyfuzji diffusion du pigment noir / diffusion of black pigment / Diffusion der schwarzen Tusche / difusión pigmento negro / diffusione del pigmento nero / difusão do pigmento negro / διάχυση μελανής χρωστικής / spridning av svart pigment / diffusion af sort pigment / dyfuzja czarnego pigmentu	
GLU	D-glucose / D-Glukose / D-glucosa / D-glucosio / D-γλυκόζη / D-glukos / D-glukoza	1,9	fermentation - oxydation (GLUcose) / fermentation - oxidation (GLUcose) / Fermentation - Oxidation (GLUcose) / fermentación-oxidación (GLUcose) / fermentazione - ossidazione (GLUcose) / fermentação - oxidação (GLUcose) / ζύμωση - οξείδωση (μανιτόλης) / jäsnig - oxidation (GLUkos) / fermentacja - utlenianie (glukoza) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul - azul-esverdeado / kuavó - kuavompársavo / blá - blágrön / blá - blágrön / niebieski - niebiesko-zielony jaune - jaune gris / yellow - greyish yellow / gelb - gelb grau / amarillo/amarillo grisáceo / giallo - giallo grigio / amarelo - amarelo acinzentado / κίτρινο - γκριζωπό κίτρινο / gul - grågul / gul - grågul / žółty - szaro-żółty	
MAN	D-mannitol / D-Mannit / D-manitol / D-mannitolo / D-μανιτόλη	1,9	fermentation - oxydation (MANnit) / fermentation - oxidation (MANnit) / Fermentation - Oxidation (MANnit) / fermentación-oxidación (MANnit) / fermentazione - ossidazione (MANnit) / fermentação - oxidação (MANnit) / ζύμωση - οξείδωση (μανιτόλης) / jäsnig - oxidation (MANnit) / fermentacja - utlenianie (mannitol) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / kuavó - kuavompársavo / blá - blágrön / blá - blágrön / niebieski - niebiesko-zielony jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / žółty	
INO	Inositol / Inosit / inositolo / ινοσιτόλη / inozytol	1,9	fermentation - oxydation (INOsit) / fermentation - oxidation (INOsit) / Fermentation - Oxidation (INOsit) / fermentación-oxidación (INOsit) / fermentazione - ossidazione (INOsit) / fermentação - oxidação (INOsit) / ζύμωση - οξείδωση (ινοσιτόλης) / jäsnig - oxidation (INOsit) / fermentacja - utlenianie (inozytol) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / kuavó - kuavompársavo / blá - blágrön / blá - blágrön / niebieski - niebiesko-zielony jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / žółty	

Annexes

TESTS / TEST / ΕΞΕΤΑΣΗ / TESTER	COMPOSANTS ACTIFS / ACTIVE INGREDIENTS / AKTIVE BESTANDTEILE / COMPONENTES ACTIVOS / SUBSTRATI / COMPONENTES ACTIVOS / ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ / AKTIVA INGREDIENSER / AKTIVE INHOLDSTOFFER / AKTYWNE SKŁADNIKI	QTE / QTY / MENGE / CANTIDAD / Q.TA' / QTD / ΠΟΣ. / MĀNGD / MĀENGD / STĚŽENIE / (mg/lup. / mg/vert. / mg/lup. / mg/kum. / mg/kup. / mg/brand / mg/probówka)	REACTIONS-ENZYMES / REAKTIONE-ENZYMEN / REACCIONES-ENZIMAS / REAZIONI-ENZIMI / REACȚIUNES-ENZIMAS / ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ-ΕΝΖΥΜΑ / REAKTIONER-ENZYMER / REAKTIONER/ENZYMER / REAKCJE/ENZYMY	RESULTATS / RESULTS / ERGEBNISSE / RESULTADOS / RISULTATI / RESULTADOS / ΑΝΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ / RESULTAT / RESULTATER / WYNIKI	
				NEGATIF / NEGATIVE / NEGATIV / NEGATIVO / ΑΡΗΘΙΚΟ / NEGATIV / NEGATYWNY	POSITIF / POSITIVE / POSITIV / POSITIVO / ΘΕΤΙΚΟ / POSITIV / POZYTYWNY
MEL	D-melibiose / D-Melibiose / D-melibiosa / D-melibioso / D-μελιβιόζη / D-melibios / D-melibioza	1,9	fermentation - oxydation (MELibiose) / fermentation - oxydation (MELibiose) / fermentación-oxidación (MELibiosa) / fermentazione - ossidazione (MELibiosio) / fermentation - oxydation (MELibiose) / ζύμωση - οξείδωση (μελιβιόζης) / jäsning - oxydation (MELibios) / fermentacja - utlenianie (melbioza) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / κυανό - κυανοπράσινο / blá - blágrön / blá - blágran / niebieski - niebieskozielony	jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / zóly
SAC	D-saccharose / D-sucrose / D-sacarosa / D-saccharosio / D-saccharose / D-σακχαρόζη / D-sukros / D-sucrose / D-sacharosa	1,9	fermentation - oxydation (SACcharose) / fermentation - oxydation (SACcharose) / fermentación-oxidación (SACarosa) / fermentazione - ossidazione (SACcarosio) / fermentation - oxydation (SACarose) / ζύμωση - οξείδωση (σακχαρόζης) / jäsning - oxydation (SACkaros) / fermentacja - utlenianie (sacharosa) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / κυανό - κυανοπράσινο / blá - blágrön / blá - blágran / niebieski - niebieskozielony	jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / zóly
MEL	D-melibiose / D-melibiosa / D-melibioso / D-μελιβιόζη / D-melibios / D-melibioza	1,9	fermentation - oxydation (MELibiose) / fermentation - oxydation (MELibiose) / fermentación-oxidación (MELibiosa) / fermentazione - ossidazione (MELibiosio) / fermentation - oxydation (MELibiose) / ζύμωση - οξείδωση (μελιβιόζης) / jäsning - oxydation (MELibios) / fermentacja - utlenianie (melbioza) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / κυανό - κυανοπράσινο / blá - blágrön / blá - blágran / niebieski - niebieskozielony	jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / zóly
AMY	Amygdaline / Amygdalin / amigdalina / αμυγδαλίνη / amygdalin /	0,57	fermentation - oxydation (AMYgdaline) / Fermentation - Oxidation (AMYgdalin) / fermentación-oxidación (AMYgdalina) / fermentazione - ossidazione (AMlgdalina) / Fermentação - oxydação (AMlgdalina) / ζύμωση - οξείδωση (αμυγδαλίνης) / jäsning / oxydation (AMYgdalin) / fermentacja / utlenianie (amigdalina) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / κυανό - κυανοπράσινο / blá - blágrön / blá - blágran / niebieski - niebieskozielony	jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / zóly
ARA	L-arabinose / L-arabinosa / L-arabinosio / L-αραβινόζη / L-arabinos / L-arabinoza	1,9	fermentation - oxydation (ARAbinose) / fermentation - oxydation (ARAbinosa) / fermentación-oxidación (ARAbinosa) / fermentazione - ossidazione (ARAbinosio) / fermentation - oxydation (ARAbinose) / ζύμωση οξείδωση (αραβινόζης) / jäsning - oxydation (ARAbinos) / fermentacja - utlenianie (arabinoza) (4)	bleu - bleu-vert / blue - blue green / blau - blau-grün / azul - azul verdoso / blu - blu-verde / azul-esverdeado / κυανό - κυανοπράσινο / blá - blágrön / blá - blágran / niebieski - niebieskozielony	jaune / yellow / gelb / amarillo / giallo / κίτρινο / gul / zóly
OX	(voir notice du test oxydase) / (see oxidase test package insert) / (siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests) / (ver ficha técnica del test de oxidasa) / (vedere scheda tecnica del test ossidasi) / (consultar o folheto informativo do teste oxidase) / (βείτε επώκλειστο οδηγών της εξέτασης οξειδάσης) / (se bipacksedel för oxidastest) / (se inlægseddell for oxidase-test) / (przezczytać instrukcje do testu oksydazy)		cytochrome-Oxydase / Cytochrom Oxidase / citocromo-Oxidasa / citocromo-Ossidasi / Citocromo-Oxidase / οξειδάση του κυτοχρώματος / cytochrom-Oxidase / cytochrom-Oxidase / oksydaza cytochromowa	(voir notice du test oxydase) / (see oxidase test package insert) / (siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests) / (ver ficha técnica del test de oxidasa) / (vedere scheda tecnica del test ossidasi) / (consultar o folheto informativo do teste oxidase) / (βείτε επώκλειστο οδηγών της εξέτασης οξειδάσης) / (se bipacksedel för oxidastest) / (se inlægseddell for oxidase-test) / (przezczytać instrukcje do testu oksydazy)	

Annexe 08 : Réalisation de l'antibiogramme.

❖ Principe :

La réalisation d'un antibiogramme se fait après chaque isolement et identification d'un microorganisme, il est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé qui utilise des disques d'antibiotiques qui sont déposés sur une surface d'un milieu gélosé ensemencé préalablement avec une culture de la souche à étudier. Cette application de disques permet la diffusion des antibiotiques d'une manière uniforme. Après incubation, ces disques s'entourent de zones d'inhibition qui signifie que la souche n'a pas poussé autour du disque. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre de chaque zone afin que la souche soit qualifiée sensible, intermédiaire, résistante envers chaque antibiotique.

❖ Etapes de la technique :

• Préparation de la suspension (inoculum) :

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile 3 à 4 colonies bien isolés à partir du milieu de culture préalablement incubé pendant 24h.
- Dissoudre ces colonies dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile puis homogénéiser à l'aide d'un vortex ou bien manuellement.

• Ensemencement sur milieu Mueller Hinton :

- Trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne jusqu'à ce que l'écouvillon soit totalement mouillé, ensuite son essorage en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Réaliser des stries serrées à l'aide de l'écouvillon trois fois successivement en tournant la boîte de pétri de 60° à chaque fois pour bien recouvrir la gélose et avoir un tapis homogène sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le bord de la gélose.

NB : Dans notre étude on a ensemencé deux ou des fois trois boîtes de pétri (selon le nombre d'antibiotique utilisés).

• Dépôt des disques d'antibiotiques :

- Les disques choisis pour *pseudomonas aeruginosa* sont posés à l'aide d'une pince stérile. Les disques doivent être parfaitement appliqués. Une distance doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés pour que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

Annexes

- Appuyer légèrement avec la pince stérile sur chaque disque sans glissement pour assurer l'adhésion avec la gélose.

Laisser les boîtes sur la paillasse pour assurer une pré-diffusion des antibiotiques et ensuite les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24h à 37C°.

❖ Lecture :

Après incubation, il y'a absence ou présence des zones claires autour des disques ayant des diamètres variables, ce sont des zones d'inhibitions ou de sensibilité. A l'aide du pied à coulisse métallique, on mesure ces diamètres afin de déterminer le profil de résistance de la souche étudiée. (Voir annexe 03 et 04).

Les valeurs retrouvées sont ensuite comparées aux valeurs critiques reportées dans la table de lecture (selon les directives du CLSI) afin de classer la bactérie en fonction des antibiotiques testés en :

- Souche sensible : le diamètre mesuré se trouve dans la marge de la sensibilité.
- Souche résistante : le diamètre mesuré se trouve dans la marge de la résistance.
- Souche intermédiaire : le diamètre mesuré se situe dans la marge de l'intermédiaire.

Résumé

Les affections respiratoires sont des maladies qui affectent le système respiratoire, Parmi les agents causant ces affections, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie souvent associée à des infections pulmonaires sévères et chroniques. Ce dernier est un pathogène opportuniste qui peut causer des infections chez les individus immunodéprimés, les patients atteints de mucoviscidose, les personnes sous ventilation mécanique ou ayant des dispositifs médicaux invasifs. De plus cette bactérie est connue pour développer une résistance aux antibiotiques ce qui pose un défi majeur en matière de traitement médical.

Dans notre étude, nous nous sommes fixés plusieurs objectifs. Nous avons recherché et caractérisé les souches de *Pseudomonas aeruginosa* à partir de divers échantillons respiratoires tels que les crachats, les liquides pleuraux et les drains thoraciques provenant des malades hospitalisés ou externes. L'identification de ces souches et la détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques étaient également des aspects clés de notre travail. À la suite de notre étude, nos résultats sont les suivants :

Une fréquence relativement élevée de *Pseudomonas aeruginosa* été isolé (48%), principalement au niveau des expectorations bronchiques. Ces souches ont démontré des résistances aux antibiotiques touchant toutes les familles d'antibiotiques, principalement les bêtalactamines. Les degrés de résistance varient, avec des pourcentages de résistance de 41% pour la ticarcilline, 20% pour la pipéracilline, 8% pour l'imipénème, 6% pour l'aztréonam et 3% pour la ceftazidime. Il est important de noter que la résistance de ces souches est plus fréquente chez les patients âgés de 40 à 60 ans (54%) et chez les hommes.

La résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* représente un défi majeur dans le domaine de la santé. Pour faire face à cette résistance, il est essentiel d'adopter une approche de lutte globale et multidisciplinaire, comprenant la surveillance de la résistance, une utilisation prudente des antibiotiques, la mise en œuvre de mesures de prévention des infections, la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques, ainsi que l'exploration de thérapies alternatives.

Mots clés : Infections respiratoires, *Pseudomonas aeruginosa*, facteurs de virulence, résistance aux antibiotiques, mécanismes de résistance, CHU de Tizi Ouzou.

Summary

Respiratory conditions are diseases that affect the respiratory system. Among the causative agents of these conditions, *Pseudomonas aeruginosa* is a bacterium often associated with severe and chronic lung infections. The latter is an opportunistic pathogen that can cause infections in immunocompromised individuals, patients with cystic fibrosis, people on mechanical ventilation or with invasive medical devices. In addition, this bacterium is known to develop resistance to antibiotics, which poses a major challenge in terms of medical treatment.

In our study, we set ourselves several objectives. We searched for and characterized the strains of *Pseudomonas aeruginosa* from various respiratory samples such as sputum, pleural fluids and chest drains from hospitalized or outpatients. Identifying these strains and determining their antibiotic resistance profiles were also key aspects of our work. As a result of our work, our results are as follows:

A relatively high frequency of *Pseudomonas aeruginosa* was isolated (48%), mainly from bronchial sputum. These strains demonstrated resistance to antibiotics affecting all families of antibiotics, mainly beta-lactams. Degrees of resistance vary, with resistance percentages of 41% for ticarcillin, 20% for piperacillin, 8% for imipenem, 6% for aztreonam, and 3% for ceftazidime. It is important to note that the resistance of these strains is more frequent in patients aged 40 to 60 years (54%) and in men.

Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* represents a major challenge in the field of health. To deal with this resistance, it is essential to adopt a comprehensive and multidisciplinary control approach, including resistance monitoring, prudent use of antibiotics, implementation of infection prevention measures, research and development. New antibiotics, as well as the exploration of alternative therapies.

Keywords : Respiratory infections, *Pseudomonas aeruginosa*, virulence factors, antibiotic resistance, resistance mechanisms, Tizi Ouzou University Hospital