

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
Faculté de Médecine
Département de pharmacie



Mémoire de Fin d'Etude

N° d'ordre : 08/FM/DP/2016

Présenté et soutenu publiquement

Le 26 Juin 2016

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Thème

**Etude de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU
Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015**

Réalisé par :

- Bourahla Naima
- Haddache Wissam

Membres du jury :

Azzam	Amina	Maitre-assistante	CHU/TO	Présidente du jury
Haouchine	Dalila	Maitre-assistante	CHU/TO	Promotrice
Djeboua	Taoufik	Maitre-assistant	CHU/TO	Examineur
Chennafi	Yasmine	Assistante	CHU/TO	Examinatrice

Promotion 2015-2016

Dédicaces

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

Mes sœurs et frères, Dalila, Imane, Hacine et Hamza

Le petit Mohamed Rayan

Mes oncles et tantes, pour leur aide et encouragement sans cesse

Toutes mes camarades de promotion : Imane, Djahida, Imane, Djamila, Nadia et Hanane

Ma collègue, Wissam, pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble pour

commencer et achever ce modeste travail

Ma chère amie Lilia

Mes enseignants de primaire, CEM, lycée et université

Toute personne qui, pendant le long parcours de mes études, m'a aidé de près ou de loin pour

arriver à ce moment où j'obtiens mon diplôme

Naima

Dédicaces

Je dédie ce travail

A

***ALLAH** le tout puissant à qui je dois tout.*

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

Mes frères, Seif Eddine, Mohamed Nour El Islam et Sohaïb

Ma petite sœur Chaïma

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

Tous mes amis et camarades : Imane, Djahida, Nadia, Hanane, Djamila et Lamia

Sans oublier ma collègue et ma chère amie Naima

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

Wissam

Remerciements

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.

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice

Dr HAOUCHINE. D

maître-assistante en microbiologie au CHU T.O,

pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, son encouragement et son soutien.

Nous remercions aussi :

Dr CHERIFI. L *notre co-promotrice pour son assistance bien matérielle que morale, pour son aide et sa rigueur scientifique.*

Tout le personnel du laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi Ouzou.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury,

qui nous font l'honneur d'examiner notre travail :

Dr Azzam, *présidente du jury ; Dr Chennafi et Dr Djerboua*, *examineurs.*

Enfin, nous remercions toute personne qui a contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Liste des abréviations	iv
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	x
Introduction	01
Objectif.....	02
Partie 01 : Revue bibliographique	
Chapitre I : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
1. Généralités.....	03
2. Classification.....	03
3. Caractères bactériologiques.....	03
3.1. Morphologie	03
3.2. Structure	04
3.2.1. Structure générale.....	04
3.2.2. Structure antigénique.....	04
3.2.3. Structure génétique.....	05
3.3. Caractères culturels	05
3.4. Caractères biochimiques	06
3.5. Les pigments	06
3.5.1. La pyocyanine	06
3.5.2. La pyoverdine.....	06
4. Les facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i>	06
5. Habitat	07
6. Pathogénie	07
Chapitre II : Diagnostic des infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
1. Pouvoir pathogène du <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	09
1.1. Définition des infections nosocomiales.....	09
1.2. Les infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	09
2. Démarche diagnostic du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au niveau du laboratoire de microbiologie	10
2.1. Prélèvement.....	10
2.2. Isolement	10
2.3. Identification	10

2.3.1. Examen microscopique	11
2.3.2. Identification biochimique	12
2.4. Culture	13
2.5. Antibiogramme.....	13

Chapitre III : Antibiotiques et résistance

1. Généralités sur les antibiotiques.....	17
1.1. Définition d'un antibiotique	17
1.2. Classification des antibiotiques	17
1.2.1. Selon leur origine	17
1.2.2. Selon leur spectre d'activité	17
1.2.3. Selon leur mode d'action.....	17
1.2.4. Selon leur structure chimique.....	18
1.2.5. Les principales familles d'antibiotiques.....	18
1.2.5.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane	18
1.2.5.2. Antibiotiques agissant sur les membranes (externe et cytoplasmique).....	18
1.2.5.3. Antibiotiques agissant sur l'appareil nucléaire	18
1.2.5.4. Antibiotiques agissant sur les ribosomes	18
1.2.5.5. Antibiotiques agissant sur les acides mycoliques (antituberculeux).....	19
1.3. Mode d'action des antibiotiques	19
1.4. Paramètre d'activité d'un ATB	21
2. La résistance aux antibiotiques	22
2.1. Définition	22
2.2. Les types de résistance	22
2.3. Le support génétique de la résistance.....	22
2.3.1. Les résistances mutationnelles	22
2.3.2. Les résistances extra-chromosomiques	23
2.4. Les mécanismes de résistance microbienne aux antibiotiques.....	23
2.4.1. Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques	23
2.4.2. Résistance par diminution de la perméabilité	24
2.4.3. Résistance par modification de la cible	25
2.4.3.1. Modification des PLP (Protéines de Liaison aux Pénicillines)	25
2.4.3.2. Modification de la cible ribosomale	25
2.4.3.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques.....	26
2.4.4. Efflux actif.....	26

Chapitre IV : la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

1. Généralités.....	28
2. Résistances naturelles.....	28
3. Résistances acquises.....	29
3.1. Résistance aux bêtalactamines	29
3.1.1. Résistance enzymatique	29
3.1.2. Résistance non enzymatique	31
3.2. Résistance aux aminosides	31
3.2.1. Résistance par inactivation enzymatique	32
3.2.2. Résistance par diminution de la perméabilité membranaire	32
3.2.3. Résistance par modification de la cible ribosomale	32
3.2.4. Résistance par efflux actif	32
3.3. Résistance aux fluoroquinolones.....	33
3.3.1. Résistance par modification de la cible.....	33
3.3.1. Résistance par modification de la cible.....	33
3.4. Résistance à la fosfomycine.....	33

Partie 02 : Partie pratique

Introduction	35
1. Matériel et méthodes	36
2. Résultats	37
3. Discussion	66
Conclusion.....	70
Références bibliographiques	71
Annexes	I

Résumé

Liste des abréviations

A

- **AAC** : Acétyl-Amino-Transférase.
- **ADN** : Acide Désoxy-ribo-Nucléique.
- **ADP** : Adénosine Di-Phosphate.
- **ANT** : Aminoside Adényl-Transférase.
- **APH** : Aminoside Phospho-Transférase.
- **ARN** : Acide Ribo-Nucléique.
- **ARNr** : ARN ribosomal.
- **ARNt** : ARN de transfert.
- **ATB** : Antibiotique.

B

- **BLSE** : Béta-Lactamase à Spectre Elargie.

C

- **CbpD** : Chitin-Binding-Protéine D.
- **CHU T.O** : Centre hospitalo-universitaire de Tizi Ouzou.
- **CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute.
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- **C1q/C3** : composants du Complément.
- **C1G, C2G et C3G** : respectivement, Céphalosporines de première deuxième et troisième Génération.

D

- **DHFR** : Di-Hydro-Folate-Réductase.
- **DHSP** : Di-Hydro-Ptéroyl-Synthétase.

E

- ***E. coli*** : *Escherichia coli*.
- **EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétracyclique.
- **Edna** : Extracellular DNA
- **EF** : Facteur d'Elongation.
- **EPS** : Extracellular Polymeric Substance.
- **ETA** : Exotoxine A.
- **EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

F

- **FQs** : Fluoroquinolones.

G

- **GN** : Gélose nutritive.
- **Gyr** : Gyrase.
-

I

- **I** : Intermédiaire.
- **Ig** : Immunoglobuline.

K

- **Kda** : Kilo-dalton.

L

- **La** : Large
- **LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien.
- **LDL** : Light Density Lipoprotéin.
- **LRP** : LDL Related Protéine.
- **LPS** : Lipopolysaccharide.

M

- **M** : Muqueuse.
- **MDR** : Multiple Drug Résistance.
- **Mex** : Multiple Efflux.
- **MLS** : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines.
- **min** : Minute.
- **mm** : Millimètre.

N

- **NBR** : Nombre
- **nm** : Nanomètre.

O

- **OMS** : Organisation Mondiale de Santé.
- **Opr** : Outre membrane protéine.

P

- ***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*.
- **PAB** : Acide Para-Amino-Benzoiique.
- **PBP** : Pénicilline Binding Protéine.
- **PL** : Phospholipase.
- **PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines.
- **PNN** : PolyNucléaires Neutrophiles.
- **Psl** : Polysaccharid synthésis locus.

Q

- **QRDR** : Quinolones Résistance Détermining Région.

R

- **R** : Résistant.
- **RmtA** : Résistance métylase transférase A.

S

- **S** : Sensible.
- **s** : seconde.
- **SP** : Surfactant Protéine.

T

- **tox** : gène de l'exotoxine.
- **TNF** : Interféron.

U

- **UDP** : UndéaPrényl-Phosphate.
- **uPAR** : urokinase type Plasminogène Activator Receptor.
- **µm** : micromètre.
- **µg** : microgramme.

Liste d'abréviations des antibiotiques

Bétalactamines		Aminosides	
Pénicilline	PEN	Gentamicine	GEN
Oxacilline	OXA	Streptomycine	STR
Cloxacilline	CLOX	Kanamycine	KAN
Ampicilline	AMP	Amikacine	AMK
Amoxicilline	AMX	Tobramycine	TOB
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	Nétilmicine	NET
ticarcilline	TIC	Spectinomycine	SPT
Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	néomycine	NEO
Pipéracilline	PIP		
Céfalexine	LEX	Macrolides	
Céfazoline	CZO	Erythromycine	ERY
Céfpiromo	CPO	Azithromycine	AZM
Céfoxitine	FOX	Clindamycine	CLI
Céfotaxime	CTX	Spiramycine	SPI
Céfotétan	CTT		
Céftriaxone	CRO	Cyclines	
Céftazidime	CAZ	Tétracycline	TCY
Cloxacilline	CLOXA	Doxycycline	DOX
Aztréonam	ATM		
Imipénème	IPM	Phénicolés	
Céfuroxime	CXM	Chloramphénicol	CHL
Pipéracilline + Tazobactame	TAZ	Polypeptides	
Céftazidime + Acide clavulanique	CAZ+CLAV	Colistine	COL
Acide clavulanique	AC		
Imipénème + EDTA	IM+ED	Glycopeptides	
Quinolones		Vancomycine	VAN
Acide nalidixique	NAL	Teicoplanine	TEC
Ofloxacin	OFX		
ciprofloxacine	CIP	Autres	
Nitrofurantoines		Acide fusidique	FUS
Furane	NIT	Rifamycine	RIF
		fosfomycine	FOS

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03
Tableau N° 02 : Principales pathologies causées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	08
Tableau N° 03 : Evolution du nombre des souches du <i>P. aeruginosa</i> au CHU T.O durant la période 2010-2015	35
Tableau N° 04 : Pourcentage des germes les plus isolées au laboratoire de microbiologie du CHU T.O pendant l'année 2015	36
Tableau N° 05 : Fréquence d'isolement des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon les services du CHU T.O pendant l'année 2015.....	37
Tableau N° 06 : Fréquence d'isolement du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015 par type de prélèvement	39
Tableau N° 07 : Fréquence d'isolement du <i>P. aeruginosa</i> au CHU T.O selon le sexe pendant l'année 2015	41
Tableau N° 08 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la pipéracilline au CHU T.O pendant l'année 2015	42
Tableau N° 09 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la ticarcilline au CHU T.O pendant l'année 2015	43
Tableau N° 10 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'association ticarcilline + acide clavulanique au CHU T.O pendant l'année 2015	44
Tableau N° 11 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'imipénème au CHU T.O pendant l'année 2015	45
Tableau N° 12 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la céftazidime au CHU T.O pendant l'année 2015	46
Tableau N° 13 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'aztréonam au CHU T.O pendant l'année 2015	47
Tableau N° 14 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des bêta-lactamines au CHU T.O pendant l'année 2015	48
Tableau N° 15 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la gentamicine au CHU T.O pendant l'année 2015	49

Tableau N° 16 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à l'amikacine au CHU T.O pendant l'année 2015	50
Tableau N° 17 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la nétilmicine au CHU T.O pendant l'année 2015	51
Tableau N° 18 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la tobramycine au CHU T.O pendant l'année 2015	52
Tableau N° 19 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des aminosides au CHU T.O pendant l'année 2015	53
Tableau N° 20 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la ciprofloxacine au CHU T.O pendant l'année 2015	54
Tableau N° 21 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la lévofloxacine au CHU T.O pendant l'année 2015	55
Tableau N° 22 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des quinolones au CHU T.O pendant l'année 2015	56
Tableau N° 23 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la fosfomycine au CHU T.O pendant l'année 2015	57
Tableau N° 24 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la colistine au CHU T.O pendant l'année 2015.....	58
Tableau N° 25 : classement des pourcentages de résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques au CHU T.O pendant l'année 2015 par ordre décroissant	59
Tableau N° 26 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015 par classe d'antibiotiques	60
Tableau N° 27 : La fréquence des BLSE produites par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015	61
Tableau N° 28: Comparaison des taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> au CHU T.O avec les valeurs nationales.....	62

Liste des figures

Figure N° 01: Aspects microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> après coloration de Gram (x1000).....	04
Figure N° 02. Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	07
Figure N° 03 : souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrice d'une BLSE.....	14
Figure N° 04: Principaux sites d'action des antibiotiques	19
Figure N° 05 : Résistance par production d'enzymes (bétalaclamases)	23
Figure N° 06 : Résistance par diminution de la perméabilité.....	24
Figure N° 07 : Résistance par système d'efflux actif.....	26
Figure N° 08 : antibiogramme de la souche sauvage de référence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
Figure N° 09 : Evolution du nombre des souches du <i>P. aeruginosa</i> au CHU T.O durant la période 2010-2015.....	35
Figure N° 10 : pourcentage des germes les plus isolées au laboratoire de microbiologie du CHU T.O pendant l'année 2015	36
Figure N° 11 : Fréquence d'isolement des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon les services pendant l'année 2015	38
Figure N° 12 : Fréquence d'isolement du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015 par type de prélèvement	40
Figure N° 13 : Fréquence d'isolement du <i>P. aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015 selon le sexe.....	41
Figure N° 14 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la pipéracilline au CHU T.O pendant l'année 2015	42
Figure N° 15 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la ticarcilline au CHU T.O pendant l'année 2015	43
Figure N° 16 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'association ticarcilline + acide clavulanique au CHU T.O pendant l'année 2015	44
Figure N° 17 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'imipénème au CHU T.O pendant l'année 2015	45

Figure N° 18 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la céftazidime au CHU T.O pendant l'année 2015	46
Figure N° 19 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'aztréonam au CHU T.O pendant l'année 2015	47
Figure N° 20 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des bêtalactamines au CHU T.O pendant l'année 2015	48
Figure N° 21 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à la gentamicine au CHU T.O pendant l'année 2015	49
Figure N° 22 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à l'amikacine au CHU T.O pendant l'année 2015	50
Figure N° 23 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la nétilmicine au CHU T.O pendant l'année 2015	51
Figure N° 24 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la tobramycine au CHU T.O pendant l'année 2015	52
Figure N° 25 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des aminosides au CHU T.O pendant l'année 2015	53
Figure N° 26 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la ciprofloxacine au CHU T.O pendant l'année 2015	54
Figure N° 27 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la lévofloxacine au CHU T.O pendant l'année 2015	55
Figure N° 28 : Résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux ATB appartenant à la famille des quinolones au CHU T.O pendant l'année 2015.....	56
Figure N° 29 : Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i> à la fosfomycine au CHU T.O pendant l'année 2015	57
Figure N° 30 : Classement des pourcentages de résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques au CHU T.O pendant l'année 2015 par ordre décroissant.....	59
Figure N° 31 : Pourcentage de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015 par classe d'antibiotiques.....	60
Figure N° 32 : La fréquence des BLSE produites par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au CHU T.O pendant l'année 2015	61

Figure N° 33: Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au CHU T.O avec les valeurs nationales.....62

INTRODUCTION

Introduction

Depuis la découverte et l'utilisation des antibiotiques, l'antibiothérapie a permis le traitement d'un grand nombre d'infections bactériennes, voire parasitaires et d'améliorer l'espérance de vie humaine. Néanmoins, l'utilisation des antibiotiques a conduit inexorablement au développement progressif de résistances bactériennes.

Actuellement, l'accroissement du nombre d'infections provoquées par des bactéries multi-résistantes et l'acquisition de nouveaux mécanismes de résistances par les bactéries posent un véritable problème dans nos hôpitaux. En effet, les infections nosocomiales ont une incidence sur le coût des soins, en allongeant la durée de séjour et en augmentant le coût du traitement.

Pseudomonas aeruginosa est un germe hospitalier multi-résistant responsable d'infections nosocomiales, il est impliquée 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 et d'autres infections en milieu hospitalier. Il est très résistant à un grand nombre d'antibiotiques, Cette bactérie semble pouvoir être facilement véhiculée par l'eau, par l'air et par des particules (poussières) ou surfaces contaminées. La facilité de la contagion s'explique par son caractère ubiquitaire, et – en milieu hospitalier – par le fait qu'elle peut facilement transférer ou acquérir des gènes de résistance à partir d'autres bactéries des souches proches, mais aussi d'espèces plus éloignées.

Ces caractéristiques du *Pseudomonas aeruginosa* ont rendu le suivi de ce germe en milieu hospitalier plus qu'important en vue de diminuer sa propagation, de minimiser la fréquence des souches multi-résistantes et donc de baisser le coût du traitement.

C'est dans ce but que notre travail a été réalisé dans le cadre de la préparation de mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, et qui consiste à une étude statistique de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques chez les patients hospitalisés dans les différents services du CHU Nedir Mohamed du Tizi Ouzou pendant l'année 2015.

OBJECTIF

Objectif

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'état de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU T.O pendant l'année 2015, et cela en réalisant une étude statistique sur les données préalablement archivées dans le logiciel WHONET 5.6 du laboratoire de microbiologie. Selon les résultats obtenus, des mesures peuvent être prise afin de prévenir la dissémination des souches résistantes et diminuer le développement de nouveaux mécanismes de résistance.

PARTIE 01
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
PSEUDOMONAS AERUGINOSA

1. Généralités

Le bacille pyocyanique (du grec : *pyon*, pus ; et du latin : *cyaneus*, bleu foncé) est maintenant désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* (du latin : *aes*, airain, cuivre ; *aerugo*, rouille d'airain, vert de gris ; *aeruginosus*, couvert de rouille). *P. aeruginosa* est l'espèce du genre *Pseudomonas* la plus rencontrée en pathologie infectieuse [1].

2. Classification

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* appartient à la famille de pseudomonaceae qui sont des bactéries Gram négatif, à ciliature polaire (rarement immobiles), aérobies strictes, ayant un métabolisme exclusivement respiratoire et ne fermentent jamais le glucose [1]. La classification du *Pseudomonas aeruginosa* est présentée dans le tableau 01 suivant [2] :

Tableau N° 01 : Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	
Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

Benabid R. Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa* [Thèse]. Reims : Université De Reims Champagne-Ardenne ; 2009.

3. Caractères bactériologiques

3.1. Morphologie

Pseudomonas aeruginosa a la forme de bâtonnets rigides, droits, avec des extrémités arrondies. Elle est très mobile se déplaçant en ligne droite, avec un léger frétillement, à condition que la tension partielle en oxygène du milieu soit suffisante. Après coloration de Gram, les bactéries se présentent comme des bacilles à Gram négatif, colorés uniformément ou avec un aspect bipolaire, ayant 0,5 à 1,0 µm de diamètre et 1 à 5 µm de long. Les bacilles sont en général isolés

ou en petits amas ; des formes longues sont parfois visibles dans les vieilles cultures [1]. La figure suivante illustre l'aspect du *P. aeruginosa* sous microscope optique [3].



Figure N° 01: Aspect microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* après coloration de Gram (x1000)

Khalilzadeh P. Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III) ; 2009.

3.2. Structure

3.2.1. Structure générale

La structure générale du *Pseudomonas aeruginosa* ressemble au modèle classique des bactéries à Gram négatif. La cellule est limitée par deux membranes phospholipidiques, membrane cytoplasmique et membrane externe, entre lesquelles s'intercalent l'espace périplasmique. La membrane cytoplasmique contient plusieurs enzymes en particulier celles qui assurent la respiration et la phosphorylation oxydative ainsi que les PBP ou protéines de liaison aux pénicillines. De nombreuses enzymes sont synthétisées dans l'espace périplasmique ; elles peuvent soit traverser la membrane externe et agir à l'extérieur de la cellule (protéases) ou rester dans l'espace périplasmique (bétalaclamases). La membrane externe phospholipidique contient un énorme complexe macromoléculaire, le lipopolysaccharide (LPS) et de nombreuses protéines. Sortant de la membrane externe, on note le flagelle polaire et des pili [1].

3.2.2. Structure antigénique

Il existe plusieurs types d'antigènes :

- L'antigène O : ou antigène somatique, qui permet de définir 20 sérotypes, il existe des souches M se sont des bactéries entourées de slime masquant l'antigène O ;

- L'antigène H : ou antigène flagellaire, qui est formé par la partie protéique externe des flagelles composés d'au moins 55 antigènes ;
- Les autres antigènes sont les pili, les porines et l'exotoxine A, ils sont antigéniques [4].

3.2.3. Structure génétique

Pseudomonas aeruginosa a des propriétés génétiques particulières en effet elle est dotée de nombreux plasmides, divers types de transfert génétique du chromosome ou des plasmides ont été mis en évidence expérimentalement. Les plasmides peuvent être transférés soit par conjugaison, soit par transduction par l'intermédiaire d'un phage. Les plasmides gouvernent la résistance aux antibiotiques, des gènes codants pour la résistance à une série d'antibiotique ont aussi été trouvés dans des transposons situés sur le chromosome ; ces transposons pouvant passer du chromosome à divers plasmides, la résistance induite est donc transférable d'une bactérie à l'autre. Toutes ces variations génétiques peuvent modifier les avantages sélectifs de diverses souches de bacille pyocyanique dans un environnement donné ; des souches résistantes aux antibiotiques et/ou aux antiseptiques sont ainsi souvent sélectionnées en milieu hospitalier [1].

3.3. 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 30°C. Par contre, elle supporte de moindres variations de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2. *P. aeruginosa* est une bactérie aérobie stricte mais capable d'utiliser les nitrates en conditions d'anaérobiose [1]. *P. aeruginosa* est caractérisé par une odeur florale. Un milieu sélectif à base de cétrimide (ammonium quaternaire) permet la recherche et l'isolement de *P. aeruginosa* à partir des produits biologiques (urines, pus, liquide céphalo-rachidien, sang...etc.). En bactériologie médicale, 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, rugueuses avec une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques ;
- Colonies plus petites lisses « S » bombées à bord régulier ;
- Colonies muqueuses « M » bombées, coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère d'alginate [1].

3.4. Caractères biochimiques

Le genre *Pseudomonas* sont des bactéries chimio-organotrophes avec un métabolisme strictement respiratoire, qui utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons en aérobiose, sont oxydase positive, pour certaines espèces elles réduisent le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate-réductase. Elles sont caractérisées par la diversité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie. *Pseudomonas aeruginosa* dégage une odeur aromatique caractéristique de seringas due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigments, il hydrolyse aussi la gélatine et la lécithine [6].

3.5. Les pigments

Les deux principaux pigments produits par *P. aeruginosa* sont la pyocyanine et la pyoverdine.

3.5.1. La pyocyanine

La pyocyanine est un pigment bleu sécrété par la bactérie et impliqué dans de nombreux mécanismes de pathogénicité. Elle réprime la réponse immunitaire de la cellule hôte, induit l'apoptose des neutrophiles. Son importance dans la virulence de *P. aeruginosa* a été démontrée lors des infections sur modèle animal. Ses propriétés oxydo-réductrices lui permettent d'oxyder le glutathion, d'inactiver la catalase des cellules épithéliales bronchiques et ainsi de participer aux lésions liées au stress oxydatif [3].

3.5.2. La pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore jouant également un rôle important dans la virulence de *P. aeruginosa*, notamment par régulation de l'expression d'autres facteurs de virulence comme l'exotoxine A [3].

4. Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa*

P. aeruginosa possède et utilise un vaste arsenal de facteurs de virulence. Ces derniers lui permettent de s'adapter à différents environnements et coloniser divers types d'hôtes. Ces différents facteurs de virulence sont employés par la bactérie à des niveaux différents au cours du processus infectieux. Deux classes de ces facteurs peuvent être distinguées. La première correspond aux facteurs sécrétés comme les toxines et les protéases. La deuxième classe est celle des facteurs associés à la membrane de la bactérie comme le flagelle et les pili et qui sont principalement impliqués dans l'adhérence et la motilité [1]. Figure 02 [3].

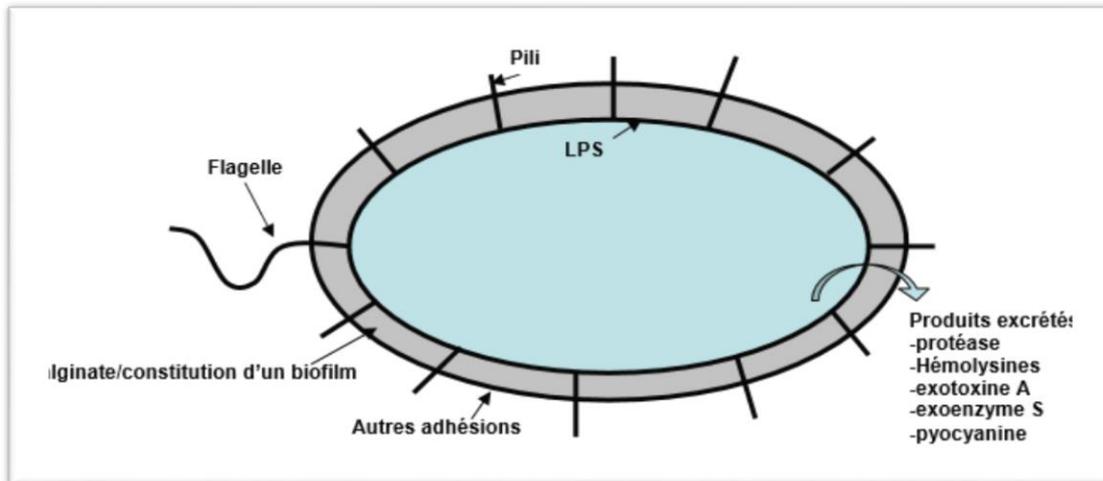


Figure N°02 : Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*.

Khalilzadeh P. Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III) ; 2009.

5. Habitat

P. aeruginosa est un germe ubiquitaire très répandu dans l'environnement. C'est un saprophyte du sol et des milieux humides ; elle peut survivre dans l'eau distillée ou salée. Elle peut vivre sur les végétaux qui sont la source de contamination humaine et animale. De nombreux légumes frais sont contaminés superficiellement avec des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique. Cela explique que la bactérie soit souvent retrouvée dans le tube digestif (4-12% des sujets sains) et sur les endroits humides du revêtement cutané (périnée, creux axillaire) des sujets sains. En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade. 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 [4].

6. Pathogénie

Pseudomonas aeruginosa était tenu pour responsable d'infections graves uniquement observées en milieu chirurgical. Cependant, avec l'ère antibiotique, le bacille pyocyanique a émergé comme une cause majeure d'infections nosocomiales. Son extrême résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques explique que cette bactérie ubiquitaire très répandue dans l'environnement soit souvent sélectionnée et puisse coloniser la peau et les muqueuses de malades souvent fragilisés par une chimiothérapie ou une intervention chirurgicale. *P. aeruginosa* est une bactérie invasive chez de tels malades du fait de la sécrétion de nombreuses enzymes et toxines.

La dissémination sanguine avec localisations métastatiques multiples sont une cause majeure de mortalité en milieu hospitalier [4].

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont remarquablement polymorphes dans leurs expressions cliniques et dans leurs localisations elles sont rarement observées chez les sujets préalablement en bonne santé. En fait, il est de règle que les infections à *P. aeruginosa* surviennent chez des malades fragilisés en milieu hospitalier [4].

CHAPITRE II
DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A
PSEUDOMONAS AERUGINOSA

1. Pouvoir pathogène du *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales. Il est capable de s'adapter à des environnements très divers en raison de sa très grande plasticité génétique, il est capable d'infecter presque tous les sites anatomiques (avec, néanmoins, une prédilection pour le tractus respiratoire en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose).

1.1. Définition des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont définies comme les accidents infectieux associés aux soins, contractés par les malades au cours de l'hospitalisation. Les infections nosocomiales sont dues à de très nombreux micro-organismes, incluant bactéries, champignons (*Candida*, *Aspergillus*..), parasites (*Pneumocystis carinii*...) et virus (Hépatite B, Herpesviridae...). Cependant, les bactéries sont à l'origine de près de 90% des infections nosocomiales [8].

1.2. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa*

Les détails sur les infections à *P. aeruginosa* sont présentés dans l'annexe N° 02. Les principales infections causées par *Pseudomonas aeruginosa* sont résumées dans le tableau suivant [8] :

Tableau N°02 : Principales pathologies causées par *Pseudomonas aeruginosa*

Site d'infection	Pathologie spécifique	Fréquence (dans une population à risque)
tractus respiratoire	-Pneumonie aiguë -Infections chroniques de l'arbre bronchique	Fréquent (hôpital; soins intensifs), mucoviscidose
Sang	-Bactériémie et septicémie	Fréquent
tractus urinaire	- Infections aiguës -Infections chroniques	Relativement fréquent (complications suite à la présence de corps étrangers)
Oreille	-Otite externe (« oreille du nageur ») -Otite externe maligne -Otite moyenne chronique suppurative.	Fréquent
peau et tissus mous	-Dermatite -Infections de plaie -Infections de brûlures	Relativement fréquent (traumatismes)
	-Ecthyma gangrenosa -Pyodermite -Folliculite - Acné vulgarisé résistant	Patients neutropéniques

Œil	-kératite (ulcère cornéen) -Enophtalmie -Ophtalmie néonatale	Rare (traumatisme)
Système nerveux central	-Méningite -Abscess cérébral	Rare (secondaire à une neurochirurgie ou à un traumatisme)
Cœur	-Endocardite	Rare (abus de drogues intraveineuses)
Os et articulations	-Pyoarthrose sténo-articulaire -Ostéomyélite vertébrale -Infection de la symphyse pubienne -Ostéo-chondrite du pied -Ostéomyélite	Rare
Tractus gastro-intestinal	-Entérocolite nécrosante -Infections péri-rectales	Rare

Mesaros N, Nordmann P, Plésiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y et al. *Pseudomonas aeruginosa* : Résistance Et Options Thérapeutiques À l'aube Du Deuxième Millénaire. Bruxelles : Douvain édition ; 2007. p. 306.

2. Démarche diagnostic du *Pseudomonas aeruginosa* au niveau du laboratoire de microbiologie

2.1. Prélèvement

Les prélèvements (pus, urines, prélèvements bronchiques, LCR, sang) sont réalisés au niveau des services d'hospitalisation des patients, et acheminés aseptiquement au service de microbiologie où ils vont subir les étapes suivantes du diagnostic :

2.2. Isolement

L'isolement est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactériennes pures à partir d'un échantillon. La technique la plus utilisée pour l'isolement est la technique des stries, qui consiste à étaler sur la surface d'un milieu gélosé (gélose nutritive préalablement coulée dans une boîte de Pétri), un inoculum sous forme de stries à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. L'isolement est réalisé selon le protocole expérimental décrit par Delarras en 2007 :

- Diviser la surface en 4 quadrants sur le fond de la boîte de Pétri et les numéroter 1 à 4 ;
- Déposer l'inoculum sur le bord de la boîte dans le quadrant 1 ;
- L'étaler en large strie ;
- Effectuer à l'aide d'une pipette Pasteur des stries serrées sur les quadrants 1 et 2 ;
- Recommencer des stries perpendiculairement aux précédentes sur les quadrants 2 et 3, puis encore perpendiculairement aux dernières sur les quadrants 3 et 4 [9].

Après l'incubation des boîtes à 37°C pendant 24 h, chaque colonie bien individualisée, est prélevée et remise en suspension dans de l'eau physiologie stérile puis repiquée dans les mêmes conditions que précédemment [9].

A partir des cultures des différents prélèvements, plusieurs souches bactériennes d'aspects morphologiques différents sont isolées et purifiées par le repiquage. L'une des souches produit une pigmentation verte, diffusant dans toute la boîte de Pétri. De plus, une odeur caractéristique de la fleur de seringa s'exhale de ses cultures. Les colonies isolées sont de grande taille avec un aspect bombé au centre présentant des reflets métalliques et au contour irrégulier (colonies la « large ») [10].

Les caractères cultureux observés après l'isolement orientent l'identification vers le *Pseudomonas aeruginosa*. Cette bactérie isolée se caractérise par une odeur aromatique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme de tryptophane; ses colonies sont plus souvent larges et bombées au centre (œufs sur le plat) avec un contour irrégulier et un reflet métallique qui résulte de la production d'enzymes protéolytiques et une pigmentation verte de pyocyanine [10].

2.3. Identification

2.3.1. Examen microscopique

➤ L'examen à l'état frais

L'état frais est une technique qui permet l'observation des bactéries vivantes entre lame et lamelle à l'objectif 40. Le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité.

L'état frais est réalisé comme suit : une petite goutte d'eau physiologie stérile est déposée avec une pipette Pasteur au centre d'une lame stérile. Une partie d'une colonie bactérienne pure et prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée et dissociée dans la goutte d'eau physiologique.

Une lamelle stérile est ensuite appliquée sur la goutte de manière à éviter la formation des bulles d'air. Puis l'observation se fait au microscope optique à l'objectif 40.

Sous microscope, la présence de bactéries sous forme de bâtonnets très mobiles oriente le diagnostic vers le *Pseudomonas aeruginosa* [10].

➤ Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle permettant de classer les bactéries en deux groupes selon la structure de leur paroi : Gram positif et Gram négatif. En effet, quand la bactérie est mise au contact du violet de gentiane et ensuite soumise à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout le cytoplasme des bactéries. Cependant lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seules celles à Gram négatif (présence de membrane externe et couche mince de peptidoglycane), qui perdent leur coloration et prennent la couleur rose après la coloration par la fushine. Les bactéries à Gram positif possèdent une couche épaisse de peptidoglycane qui empêche la pénétration de l'alcool et donc restent en couleur violette. Le protocole est le suivant :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sur une lame bien propre.
- Prélever une colonie bien isolée avec une pipette Pasteur boutonnée et la dissocier dans la goutte d'eau. Le frottis obtenu est séché dans l'étuve.
- Recouvrir totalement avec du violet de gentiane pendant 1 min, rincer ensuite à l'eau de robinet. Le frottis est ensuite recouvert de lugol pendant 1 min.
- Décolorer par l'alcool et laver rapidement à l'eau du robinet. Le frottis est enfin recouvert de fushine pendant 30 secondes, puis lavé à l'eau, séché à température ambiante et fixé au bec benzène.
- Examiner le frottis au microscope optique à l'objectif 100 et à l'immersion à l'huile de cèdre.

Après la coloration de Gram le *Pseudomonas aeruginosa* apparaît sous forme de bacilles colorés en rose [11].

2.3.2. Identification biochimique

➤ Recherche de l'oxydase

L'activité oxydase du *P. aeruginosa* peut être déterminée par la méthode des disques et selon le protocole suivant : à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, une colonie est déposée sur un disque oxydase placé sur un milieu solide. La réaction positive est révélée par l'apparition d'une tache violette [9].

➤ Recherche de la catalase

L'activité catalase du *P. aeruginosa* peut être déterminée selon le protocole expérimental décrit par Prescott et al, en 2003. Ce test consiste à mettre une colonie prélevée du milieu gélosé à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée dans de l'eau oxygénée.

Le dégagement de bulles de gaz indique la production d'une catalase et que le test est positif. La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène. Synthétisée par la plupart de bactéries aérobies [9].

➤ Mise en évidence des pigments

Les milieux King A et King B sont utilisés pour mettre en évidence successivement la pyocyanine et la pyoverdine de *P. aeruginosa*. En effet la pyocyanine verdit le milieu King A et la pyoverdine jaunit le milieu King B.

A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile des colonies bien isolées sont prélevées et ensemencées en stries médianes à la surface de chaque milieu. Ces tubes sont placés dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. La production de la pyocyanine est maximale sur le milieu King A et celle de la pyoverdine sur le milieu King B.

Le milieu King B est coloré en jaune et King A en vert, ce qui signifie la présence de pyocyanine dans le King A et la pyoverdine dans le King B [1].

2.4. Culture

La culture consiste à prendre une colonie bien isolée à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée pour faire un repiquage sur milieu simple (Gélose nutritive), sur milieux d'isolement (gélose chocolat et gélose au sang frais) et sur milieux sélectifs (BCP, Héktoen) ; l'incubation se fait à 37° C pendant 24 heures.

Après incubation les colonies qui apparaissent sur milieu Héktoen et BCP ainsi que sur GN sont d'aspect caractéristique, il s'agit de colonies de quelques millimètres de diamètre, plates ou surélevées, opaques, à surface assez dépolie, limitées par un bord régulier ou finement dentelé, prenant en vieillissant des reflets métalliques [6].

2.5. Antibiogramme

L'antibiogramme est réalisé pour déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis à-vis un ou plusieurs antibiotiques in vitro.

• Principe

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé Mueller-Hinton, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier [12].

- **Technique**

1. Réalisation d'une suspension (Inoculum)

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, une colonie bien isolée est prélevée à partir d'une culture de 18h à 24 h, qui est déchargée ensuite dans un tube contenant de l'eau physiologique, la suspension est homogénéisée tout en assurant que la densité est bien équivalente à 0,5 Mac Farland [12].

2. Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum, il est réalisé par trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ensuite l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Enfin l'ensemencement est réalisé par frottement de l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de la boîte de pétrie.

Cette opération se répète deux fois en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement se termine en passant l'écouvillon sur la périphérie de la surface gélosée [12].

3. L'application des disques

Les disques choisis sont posés à l'aide d'une paire de pinces stériles. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement, une distance de 15 mm doit séparer un disque périphérique au bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au moins de 30 mm entre centres de tel sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas. Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm [12].

- **Le choix des antibiotiques**

Le choix s'effectue selon l'état d'étude, dans notre cas les antibiotiques testés pour le *P. aeruginosa* sont par classe les suivants:

- **Bétalactamines** : pipéracilline(PIP), ticarcilline(TIC), ticarcilline + acide clavulanique(TCC), imipénème(IPM), céftazidime(CAZ), aztréonam(ATM) ;
- **Aminosides** : gentamicine(GEN), tobramycine(TOB), amikacine(AMK), nétilmicine(NET) ;
- **Quinolones** : ciprofloxacine(CIP), lévofloxacine(LVX) ;
- **Autres** : fosfomycine(FOS), colistine(COL) [12].

4. Incubation et lecture

L'incubation se fait à 37°C pendant 18-24 heures, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'aide d'un pied à coulisse, puis comparer les valeurs trouvés aux valeurs critiques [12]. Voir tableau annexe N° 03.

La mesure de ces diamètres permet de classer la bactérie en 3 catégories : sensible (S) intermédiaire (I) ou résistant (R) [12].

5. Recherche des bêtaclamases à spectre élargi

La recherche des bêtaclamases à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC 75 µg) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3ème génération : céftazidime (CAZ 30 µg), aztréonam (ATM 30 µg), céfépime (FEP 30 µg). Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne » entre les disques :

- TCC et CAZ ;
- TCC et ATM ;
- TCC et FEP [12].

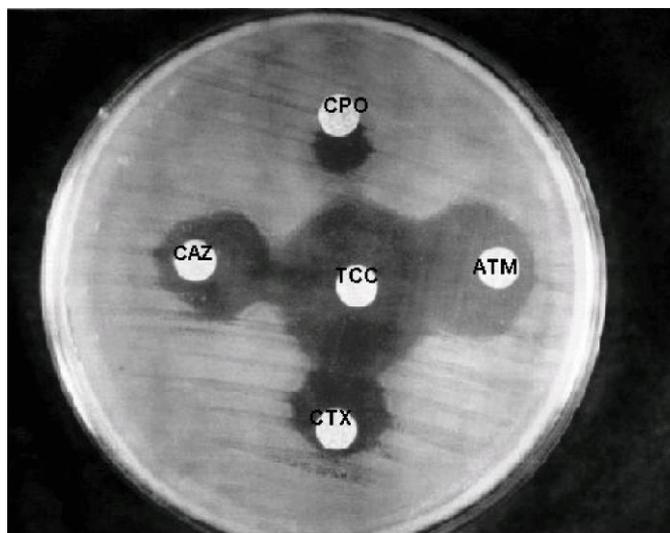


Figure N° 03 : Souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice d'une BLSE.

Réseau algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 7^{ème} édition. 2014. Disponible sur <http://www.santé.dz/aarn/index.htm>.

✚ Test de confirmation ou technique de double disque

En cas d'absence d'une synergie avec diminution des diamètres des C3G, un test de confirmation doit être systématiquement réalisé.

Il consiste à déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) à une distance de 25 mm, laisser diffuser les ATB pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut. Après une heure, ôter le disque de TCC et le remplacer par un disque de CAZ. Et incuber 18 heures à 35°C.

Le test est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G [12].

CHAPITRE III
ANTIBIOTIQUES ET
RESISTANCE

1. Généralités sur les antibiotiques

1.1. Définition d'un antibiotique

Toute substance chimique produite par des micro-organismes capable d'inhiber le développement et/ou de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes, **WAKSMAN (1943)**.

Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio-thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires, **TURPIN et VELU (1957)** [13].

1.2. Classification des antibiotiques

Pour pouvoir mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on a procédé à leur classification selon plusieurs critères :

1.2.1. Selon leur origine

✓ **Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes** : Champignons (Pénicilline, Céphalosporine) ou bactéries (Streptomycine, Chloramphénicol, Polypeptides).

✓ **Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique** : Sulfamides, Acide nalidixique.

✓ **Les antibiotiques semi-synthétiques** : Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique [14].

1.2.2. Selon leur spectre d'activité

✓ **Large spectre** : Actifs sur la majorité des bactéries Gram positif ou négatif.

✓ **Spectre limité** : Actifs sur les bactéries Gram positif et quelques Gram négatif.

✓ **Spectre étroit** : Actifs uniquement sur certains germes Gram positif ou sur certains Gram négatif [14].

1.2.3. Selon leur mode d'action

En fonction des cibles bactérienne : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse d'acides nucléiques [14].

1.2.4. Selon leur structure chimique

Les nombreux antibiotiques peuvent être groupés en familles. Une famille d'antibiotique comprend des composés ayant des analogies de structure, au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes ; au sein d'un même groupe, l'activité antimicrobienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leurs tolérance [14].

1.2.5. Les principales familles d'antibiotiques

1.2.5.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

➤ Les bêtalactamines

Elles sont réparties en trois sous familles et un groupe d'une de ces familles: les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes. Elles se fixent préférentiellement sur certaines des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) qui sont des enzymes de la phase terminale de la synthèse du peptidoglycane (transpeptidases, carboxypeptidases) catalysant les liaisons entre les chaînes peptidiques dans la paroi des bactéries. Les bêtalactamines jouent le rôle d'un substrat formant une liaison stable avec certaines PLP et bloquent l'action de ces dernières. Ce sont des produits bactéricides temps dépendants [13].

➤ Les glycopeptides

Ils ont pour cible : l'undécaprényl-phosphate (UDP), qui est un transporteur transmembranaire des précurseurs du peptidoglycane : la chaîne de peptidoglycane en formation, les peptides de la paroi non encore couplés. Ils sont bactéricides temps dépendants lents [14].

➤ La fosfomycine

Elle inhibe une des phases cytoplasmiques de la synthèse de la paroi en bloquant une pyruvyl-transférase ; Elle est bactéricide [14].

1.2.5.2. Antibiotiques agissant sur les membranes (externe et cytoplasmique)

➤ Les polymyxines

Elles se fixent sur les phospholipides membranaires ; les membranes ne peuvent plus se remanier, se déforment et deviennent perméables. Elles sont bactéricides mais diffusent mal dans les tissus [14].

1.2.5.3. Antibiotiques agissant sur l'appareil nucléaire

➤ Les sulfamides et le triméthoprim

Ils agissent sur des enzymes de la voie de synthèse de l'acide folique et des folates, qui sont des cofacteurs de la synthèse des acides nucléiques ; les sulfamides agissent sur la dihydroptéroate-synthétase ; le triméthoprim agit sur la dihydrofolate-réductase. Ils sont bactéricides [14].

➤ Les quinolones

Elles sont réparties en deux groupes : les quinolones et les fluoroquinolones larges ciblées sur quelques espèces.

Elles agissent sur des enzymes réglant la conformation de l'ADN, les topo-isomérases (essentiellement les topo-isomérases II ou ADN gyrases). Elles sont bactéricides. Elles atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [14].

➤ Les rifamycines

Ce sont des produits inhibant la synthèse des ARN messagers par inhibition de l'ARN polymérase ADN dépendante. Elles sont bactéricides et surtout utilisées pour traiter la tuberculose. Elles atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [14].

➤ Les nitro-imidazolés

Réduits en dérivés actifs en atmosphère strictement anaérobie, ils forment un complexe avec un brin d'ADN provoquant une coupure de ce dernier ; Ils sont bactéricides [14].

1.2.5.4. Antibiotiques agissant sur les ribosomes

➤ Les phénicolés

Ils se fixent sur le ribosome au niveau du site amino-acyl et inhibent l'élongation de la chaîne peptidique. Ils sont bactériostatiques ; actuellement ils sont très peu employés car ils sont toxiques sur la moelle osseuse [14].

➤ Les tétracyclines

Elles se fixent sur le ribosome au niveau du site amino-acyl mais aussi au niveau du site peptidyl quand les molécules d'acyl-ARNt fixées antérieurement sont nombreuses. Elles sont bactériostatiques et ont de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [14].

➤ **Les macrolides, lincosamides et synergistines**

Ces produits se fixent sur la sous-unité 50 S du ribosome Les macrolides et les lincosamides sont bactériostatiques ; les synergistines sont bactéricides. Ils atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [14].

➤ **L'acide fusidique**

Il se fixe sur le site amino-acyl et bloque la translocation de la chaîne peptidique en formation. Il est bactériostatique [14].

➤ **Les aminosides**

Ils se fixent irréversiblement au niveau de la sous-unité 30S du ribosome ; ils sont des inhibiteurs de la traduction : ils provoquent des erreurs de lecture du message porté par l'ARN messager. Ils sont de puissants bactéricides concentration-dépendants [14].

1.2.5.5. Antibiotiques agissant sur les acides mycoliques (antituberculeux)

➤ **L'isoniazide**

Il inhibe la synthèse des acides mycoliques, constituants essentiels de la paroi des mycobactéries Il est bactéricide sur les bacilles à multiplication active et sur les bacilles phagocytés [14].

➤ **L'éthambutol**

Il inhibe la fixation à la paroi des acides mycoliques nouvellement constitués. Il est bactériostatique sur les bacilles à multiplication active et sur les bacilles phagocytés [14].

➤ **Le pyrazinamide**

Il semble agir d'une façon proche de celle de l'isoniazide. Il est actif uniquement sur les bacilles phagocytés [14].

1.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;

-Être capable de se lier à sa cible.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité:

- Bactériostatique, s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne ;
- Bactéricide, s'il y a mort de la bactérie [15].

Les quatre cibles principales sont :

- ✓ **La paroi** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine) [16].
- ✓ **La membrane cytoplasmique** : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines) [16].
- ✓ **Le chromosome** : inhibition de la synthèse de l'ADN. Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN.
- ✓ **Le ribosome** : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides)

Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique. Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes [17]. Les quatre cibles des antibiotiques sont schématisées dans la figure 04 suivante [18].

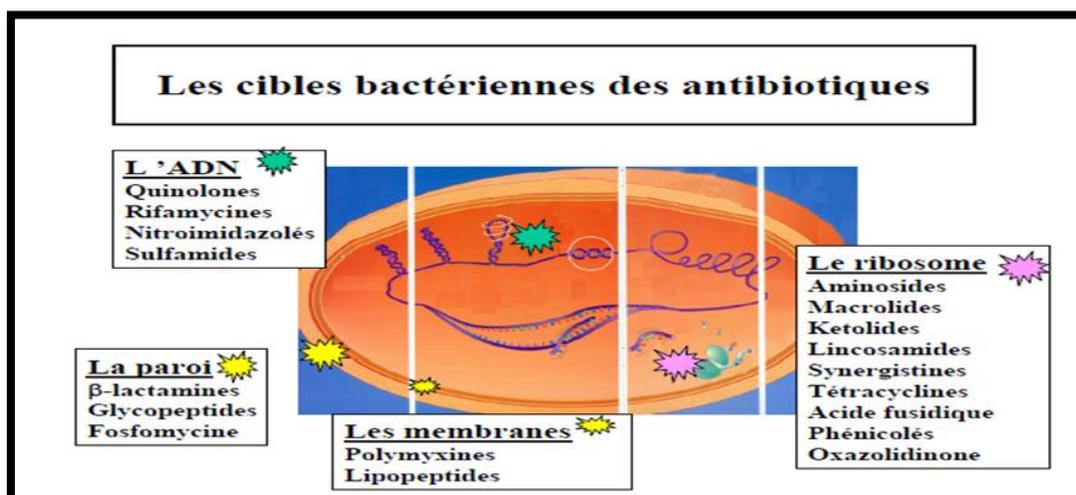


Figure N° 04: Principaux sites d'action des antibiotiques.

Archambaud M. Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB [Mémoire]. Toulouse : Université Paul Sabatier; 2009.

1.4. Paramètres d'activité d'un ATB

L'analyse de l'activité d'un antibiotique donné sur une bactérie a conduit à définir un certain nombre de paramètres qualitatifs et quantitatifs, pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition en mm et en déduit la sensibilité ou la résistance. On définit deux concentrations critiques d'antibiotique :

✓ **CMI** : concentration minimale inhibitrice (en anglais MIC, pour Minimal Inhibitory Concentration). Dans la pratique, on définit la CMI comme la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) totalement la multiplication bactérienne, après 18 à 24 heures de contact à 37 °C [4].

✓ **CMB** : la concentration minimale bactéricide, qui est la plus faible concentration permettant de détruire ou de tuer (bactéricidie) 99,99 % des bactéries après 18 à 24 heures de contact avec l'antibiotique [4].

L'analyse de la concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale inhibitrice (CMB/CMI) permet de caractériser l'effet de l'antibiotique étudié sur une souche bactérienne donnée :

- Si le rapport $CMB / CMI = 1$, l'antibiotique est dit « bactéricide absolu » ;
- S'il est proche de 1, l'antibiotique est dit « bactéricide » ;
- S'il est supérieur à 2, l'antibiotique est dit simplement « bactériostatique ».

Ainsi les différentes espèces bactériennes sont classées en trois catégories vis-à-vis d'un antibiotique : sensible, intermédiaire et résistant mais les populations bactériennes ne sont pas toujours homogènes [4].

- ✓ **Sensibles (S)** : les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D.
- ✓ **Résistantes (R)** : souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute C, correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique d.
- ✓ **Intermédiaire (I)** : les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques [4].

2. La résistance aux antibiotiques

2.1. Définition

La résistance aux agents antimicrobiens est définie comme la capacité acquise d'un microorganisme à résister à l'action inhibitrice d'antibiotiques auxquelles l'espèce est généralement sensible [1].

2.2. Les types de résistance

On distingue deux types de résistance aux antibiotiques :

- **La résistance naturelle** : c'est une résistance programmée sur le génome bactérien, donc fixe et constante à l'intérieure du taxon. A ce titre elle constitue un critère d'identification ;

- **La résistance acquise** : qui est consécutive à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre : sa fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace-région, ville, hôpital ou même service. Elle constitue un marqueur épidémiologique [1].

2.3. Le support génétique de la résistance

La résistance naturelle est programmée dans le génome bactérien. Les modifications génétiques responsables de résistance acquise sont chromosomiques, secondaires à une mutation portant sur le chromosome ou extra-chromosomiques par acquisition de gènes [1].

2.3.1. Les résistances mutationnelles

Elles sont :

- Spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique ;
- Stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien ;
- Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois ;
- Rares : le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} .

La résistance par mutation est peu répandue en clinique (moins de 20% des résistances acquises). L'usage des antibiotiques sélectionne les souches résistantes et la parade consiste donc à associer les antibiotiques. Ce type de résistance est observé, entre autres, chez les mycobactéries [1].

2.3.2. Les résistances extra-chromosomiques

Le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction. Elles sont :

- Fréquentes : (plus de 80% des résistances acquises) ;
- Contagieuses : se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes ;
- Croisées : peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une poly-résistance.

La résistance plasmidique concerne la plupart des antibiotiques. Seuls y échappent les rifamycines, les polypeptides, les nitrofuranes, les quinolones et les glycopeptides. Toutes les espèces bactériennes y sont sujettes.

L'usage d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène du plasmide sélectionne les souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance se trouve sur le plasmide, ce qui entraîne la sélection rapide de souches poly résistantes [1].

2.4. Les mécanismes de résistance microbienne aux antibiotiques

Les agents microbiens ont développé plusieurs mécanismes, afin de se défendre contre l'action des antibiotiques. Parmi ces moyens de lutte, les plus répandus sont la réduction de la perméabilité à leur pénétration et l'efflux actif, la production d'enzymes inactivant, ou encore la modification de la structure de la cible. D'autres mécanismes, existent mais sont moins répandus et sont décrits seulement pour certaines classes d'agents antimicrobiens [1].

2.4.1. Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques

Ces enzymes, produites par les bactéries, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. Leurs substrats sont les bêtalactamines, les aminosides, le chloramphénicol ou les antibiotiques de la famille des macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) [1].

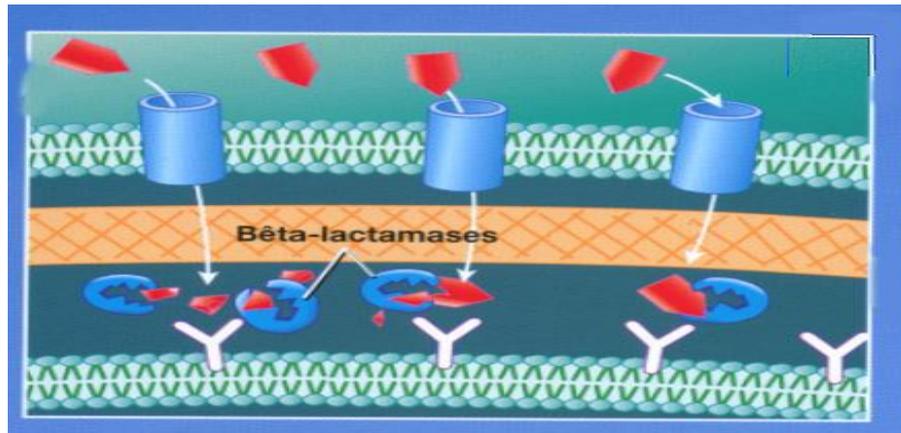


Figure N° 05 : Résistance par production d'enzymes (bêta-lactamases).

Archambaud M. Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB [Mémoire]. Toulouse : Université Paul Sabatier; 2009.

2.4.2. Résistance par diminution de la perméabilité

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance. Ce mécanisme n'affecte pas les "Gram positifs" car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries. Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, protéines formant canaux, 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. Une modification d'une porine spécifique entraîne une résistance isolée à l'imipénème chez *Pseudomonas aeruginosa* mais c'est une modification de composition du LPS qui semble être la cause de la résistance des *Pseudomonas* aux bêta-lactamines [1].

Le transport actif des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite l'intervention d'un mécanisme oxydatif qui peut être inactivé par mutation entraînant une résistance croisée à tous les aminosides (*Pseudomonas*, *E. coli*) ou par défaut d'oxygène expliquant la résistance naturelle à ces molécules des bactéries anaérobies strictes ou micro-aérophiles comme les streptocoques [1]. Figure N° 6 [18].

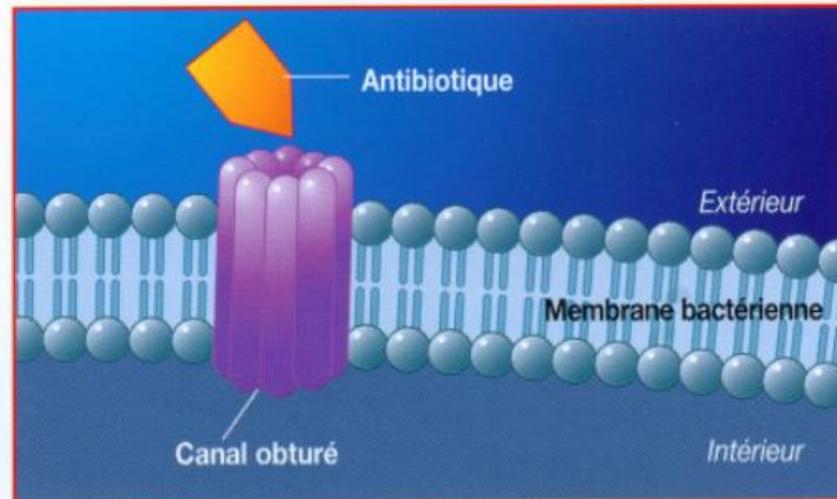


Figure N° 06 : Résistance par diminution de la perméabilité.

Archambaud M. Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB [Mémoire]. Toulouse : Université Paul Sabatier; 2009.

2.4.3. Résistance par modification de la cible

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut ensuite qu'il se fixe à une cible dans la bactérie. Si cette cible est remplacée ou modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse plus s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui souvent s'étend à toute une famille d'antibiotiques [19].

2.4.3.1. Modification des PLP (Protéines de Liaison aux Pénicillines)

Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) sont des enzymes qui interviennent dans l'assemblage du peptidoglycane de la paroi. La fixation des bêtalactamines inactive leurs fonctions enzymatiques. La bactérie, ainsi privée de paroi, devient très sensible aux systèmes auto-lytiques. La résistance est due à la diminution d'affinité de ces PLP, soit par augmentation de leur production, soit par synthèse de nouvelles PLP de très faible affinité [19].

2.4.3.2. Modification de la cible ribosomale

Les ribosomes sont le lieu des synthèses protéiques. Ils peuvent être altérés dans leur structure et leur fonctionnement par la fixation d'un antibiotique. Une modification de la cible ribosomale acquise par mutation diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante. Ce mécanisme est responsable de résistances aux tétracyclines, aux macrolides et lincosamides, au phénicolés, à la fucidine et plus rarement aux aminosides [19].

2.4.3.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques

L'ADN gyrase est essentiel pour la réplication de l'ADN. En paralysant son activité, les antibiotiques de la famille des quinolones ont un effet bactéricide. Des mutations peuvent conduire à la production d'enzymes modifiées insensibles à ces antibiotiques. L'ARN polymérase (transcriptase) est nécessaire à la synthèse des ARN messagers. Les rifamycines bloquent l'action de cette enzyme. Les résistances acquises par mutation sont dues à la production de transcriptase modifiée [19].

2.4.4. Efflux actif

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments [19].

Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible [19].

On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific-drug-resistance), généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles (ex : résistance aux tétracyclines chez les bactéries Gram négatif), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance), généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques [19]. Le mécanisme de résistance par efflux actif peut être schématisé comme la figure 07 suivante le montre [18].

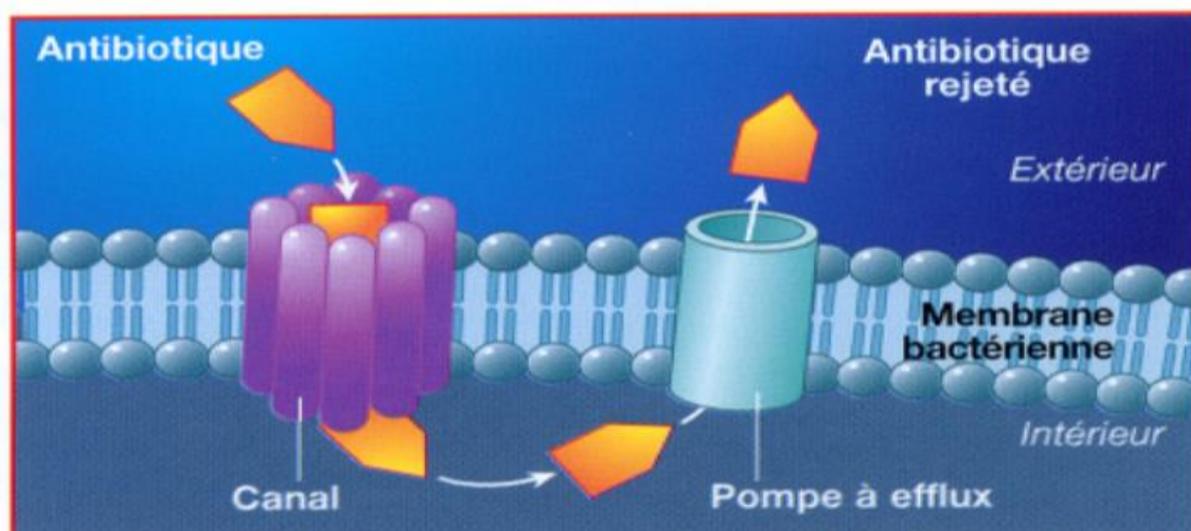


Figure N° 07 : Résistance par système d'efflux actif.

Archambaud M. Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB [Mémoire]. Toulouse : Université Paul Sabatier; 2009.

CHAPITRE IV

LA RESISTANCE DU *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AUX ANTIBIOTIQUES

1. Généralités

P. aeruginosa présente un niveau élevé de résistance naturelle aux antibiotiques. Ainsi, les molécules habituellement actives sur cette bactérie sont de nombre restreint. Les résistances acquises pour ces antibiotiques sont cependant très fréquentes, résultant de l'accumulation de mécanismes de résistance liés à des mutations chromosomiques et à l'acquisition de gènes exogènes. [20].

2. Résistances naturelles

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un très grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate, et d'une mauvaise perméabilité membranaire.

Pseudomonas aeruginosa est donc résistant aux pénicillines de groupe V, G, M et A, à la plupart des céphalosporines de troisième génération et aux quinolones de première génération. *Pseudomonas aeruginosa* est aussi généralement résistant à la kanamycine. A ces différents mécanismes se surajoute le système d'efflux actif MexAB-OprM produit constitutivement chez les bactéries sauvages, et qui joue un rôle fondamental dans la résistance naturelle à de nombreux agents toxiques ou antibiotiques dont les bêta-lactamines et les aminosides [21].

Il a été toujours considéré comme un organisme difficile à traiter en raison de sa résistance aux antibiotiques, *Pseudomonas aeruginosa* n'est sensible naturellement qu'à un nombre restreint d'antibiotiques [21].



Figure N° 08 : antibiogramme de la souche sauvage de référence de *Pseudomonas aeruginosa*.

FEP : Céfépime ; **PIP** : Pipéracilline ; **TZP** : Pipéracilline/Tazobactam ; **CTX** : Céfotaxime ; **TIC** : Ticarcilline ; **TCC** : Ticarcilline/Acide clavulanique ; **CAZ** : céftazidime ; **ATM** : Aztréonam ; **IPM** : Imipénème ; **GM** : Gentamicine ; **TM** : Tobramycine ; **K** : Kanamycine ; **CS** : Colistine ; **CIP** : Ciprofloxacine ; **AN** : Amikacine.

Cholley P. Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux [Thèse]. Besançon : Université de Franche-Comté ; 2010.

3. Résistances acquises

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Dans ce cas, la résistance acquise est présente seulement dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger [1].

3.1. Résistance aux bêtalactamines

Depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique durant la seconde guerre mondiale, un grand nombre de bêtalactamines a été mis sur le marché. Les bêtalactamines incluant les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes constituent la famille d'antibiotiques la plus fréquemment utilisée dans le traitement des infections à bactéries à Gram négatif, notamment *P. aeruginosa*. Les bactéries se sont progressivement adaptées à ces antibiotiques par différents mécanismes de résistance [20].

3.1.1. Résistance enzymatique

Les bêtalactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β -lactame de ces antibiotiques [20].

✓ **Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C** : La bêtalactamase chromosomique de type Amp C a été décrite chez une large variété de bacilles à Gram négatifs tel que *P. aeruginosa*. Des mutations dans le système de régulation de la production entraînent une production stable à haut niveau d'Amp C affectant l'activité de l'ensemble des bêtalactamines à l'exception de celle des carbapénèmes [22]. La régulation de l'expression de la bêtalactamase Amp C fait intervenir les gènes amp R, amp D, amp G. Le gène amp R correspond notamment à un activateur transcriptionnel du gène amp C qui est inductible en présence de bêtalactamines et qui est réprimé par la protéine codée par le gène amp D [21].

✓ Oxacillinase de classe D

Chez *P. aeruginosa* des BLSE dérivées d'OXA-10 et OXA-2 ont été isolées (OXA-10, 11, 14, 15,16, 19) ainsi que la bêtaclamase OXA-18. Ces enzymes sont localisées sur des plasmides (sauf OXA-18). Ils hydrolysent la plupart des bêtalactamines y compris les céphalosporines, l'imipénème et le méropénème. L'aztréonam et la pipéracilline sont moins touchés, mais leurs activités n'est pas inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam. L'OXA-18 est la seule bêtaclamase de classe D inhibée par l'acide clavulanique identifiée chez *P. aeruginosa*, le gène blaOXA-18 est localisé au niveau de chromosome [23].

✓ Carbapénèmases de classe B

La résistance acquise aux carbapénèmes (imipénème), initialement rapportée comme liée à un déficit de la porine OprD2, peut être maintenant en relation avec la synthèse de bêtaclamase de type carbapénémase (classe B). Ce sont des métallo-enzymes qui sont dépendantes de la présence d'ions Zn^{++} , donc inhibables par des chélateurs d'ion tel que l'EDTA [23].

✓ Les bêtaclamases à spectre étendu ou élargi

Les bêtaclamases à spectre élargi (BLSE) sont des enzymes récemment apparues à la suite de mutations des pénicillinases. Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles à l'action des inhibiteurs enzymatiques. Elles sont très actives contre les pénicillines et moyennement actives contre les céphalosporines de première génération. Les mutations génétiques à l'origine des BLSE élargissent le spectre de ces enzymes et touchent également les céphalosporines de troisième génération (céftazidime et céfotaxime) et les monobactames (aztréonam). Les bactéries produisant une BLSE n'hydrolysent pas les céphamycines (céfoxitine) ni les carbapénèmes [24].

Cinq types de BLSE de classe A (TEM, SHV, PER, VEB et GES) ont été détectés chez *P. aeruginosa*. Il existe actuellement neuf types connus de BLSE GES, jusqu'à présent quatre de ces types de GES (GES-1, -2, -8 et -9) ont été trouvés chez *P. aeruginosa*. Il nous faut bien distinguer les résistances acquises aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), soit par hyperproduction de céphalosporinase, soit par BLSE car les phénotypes de résistance sont différents. Ces enzymes sont habituellement détectées par une synergie entre une C3G (notamment la céftazidime) ou l'aztréonam et l'acide clavulanique (aspect en "bouchon de champagne" sur un antibiogramme) [24].

3.1.2. Résistance non enzymatique

✓ Surexpression de système d'efflux

Le système MexAB-OprM, produit constitutivement, cause une résistance naturelle à la plupart des bêtalactamines ; par dépression génétique, il occasionne une résistance acquise à ces molécules. Les systèmes MexCD-OprJ et MexEF-OprN ne se manifestent pas normalement, mais, suite à des mutations, peuvent être responsables à des résistances acquises multiples, dont le spectre est légèrement différent [25].

✓ Résistance par diminution de la perméabilité (Perte de la porine OprD2)

Dans les bactéries à Gram négatif, les porines bactériennes sont une des voies principales d'entrée pour les antibiotiques usuels comme les bêtalactamines et les fluoroquinolones. Cette protéine canalaire de la membrane externe possède un site spécifique de liaison aux carbapénèmes, et permet la pénétration sélective de l'imipénème. Des modifications de la quantité absolue ou de l'état fonctionnel de ces porines ont pour conséquence une diminution de la diffusion des antibiotiques empruntant cette voie de pénétration. Ce mécanisme par diminution de perméabilité peut entraîner une résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques. Chez *P. aeruginosa*, la modification de la protéine de membrane externe OprD2 reste le mécanisme le plus fréquent de résistance à l'imipénème [21].

✓ Modification des cibles cellulaires

Ce mécanisme de résistance implique la modification des cibles cellulaires des bêtalactamines, les protéines liant la pénicilline (PLPs), enzymes nécessaires à la synthèse d'un élément essentiel de la paroi bactérienne, le peptidoglycane. La sous-expression comme la surproduction de certaines PLP, la production de PLP altérées dont l'affinité pour les antibiotiques est réduite peut conférer aux bactéries une résistance sélective aux bêtalactamines, la dégradation de la PLP-4 serait responsable d'une augmentation de la résistance à l'imipénème et la PLP-3 augmenterait la résistance à l'aztréonam, au céfépime, à la céftazidime et au cefsulodine [26].

3.2. Résistance aux aminosides

Un certain nombre d'aminoglycosides sont couramment utilisés dans le traitement des infections à *P. aeruginosa* comme la tobramycine, la gentamicine, l'amikacine et la nétilmicine. Leur utilisation est toutefois confrontée au développement de plusieurs mécanismes de résistance. Quatre mécanismes sont développés par le bacille pyocyanique pour échapper à leur action.

3.2.1. Résistance par inactivation enzymatique

Représente le mécanisme majeur de résistance à cette famille d'antibiotique, trois types d'enzymes ont été décrites chez *P. aeruginosa* : les N-amino-acétyltransférases (AAC), qui catalysent l'acétylation d'un groupement NH₂, les O-phosphotransférases (APH) et les O-nucléotidyltransférases (ANT) qui permettent respectivement la phosphorylation et la nucléotidylation des fonctions –OH. La modification des AAC participe à la résistance de cette espèce à la plupart des aminosides utilisés en thérapeutique (gentamicine, tobramycine, nétilmicine et amikacine) [27].

Pour les APH le niveau de résistance du bacille pyocyanique augmente pour la kanamycine et la néomycine. Enfin les ANT confèrent une résistance à la streptomycine, la spectinomycine, la gentamicine et la tobramycine [27].

3.2.2. Résistance par diminution de la perméabilité membranaire

La modification de la perméabilité membranaire réduit la pénétration intracellulaire des aminosides, chez les souches cliniques de *P. aeruginosa*, l'altération des différents gènes impliqués dans la biosynthèse du lipopolysaccharide, s'accompagne parfois d'une baisse modérée de la sensibilité à l'ensemble des aminosides [21].

3.2.3. Résistance par modification de la cible ribosomale

Plus récemment, la méthylation de l'ARNr 16S a émergé comme un nouveau mécanisme de la résistance aux aminosides parmi les agents pathogènes à Gram négatif telle que *P. aeruginosa*, capable de modifier non pas l'aminoside mais la structure ribosomale sur laquelle il se fixe, l'ARN 16S. Le gène RmtA (Résistance méthylase transférase) codant, ce mécanisme a été décrit chez *P. aeruginosa* au Japon en 2003 [20]. Ces enzymes confèrent des hauts niveaux de résistance aux aminosides cliniquement utilisés, comme l'amikacine, la tobramycine et la gentamicine. Toutefois, il faut souligner que la résistance par mutation du gène codant l'ARNr 16S n'est efficace que chez les bactéries possédant une ou éventuellement deux copies des gènes de l'ARNr 16S. Mais *P. aeruginosa* possède quatre copies de ce gène, ainsi la probabilité qu'elles soient affectées toutes les quatre par des mutations identiques est très faible et la résistance par ce mécanisme est peu probable [21].

3.2.4. Résistance par efflux actif

Chez *P. aeruginosa*, seul le système d'efflux actif MexXY-OprM est capable d'exporter les aminosides vers le milieu extérieur et d'entraîner une résistance à cette famille d'antibiotiques.

Naturellement réprimé chez les souches sauvages, ce système peut être surproduit chez certains mutants, ce mécanisme de résistance aux aminosides semble être la principale cause de résistance non enzymatique à cette famille d'antibiotiques chez *P. aeruginosa*, en particulier parmi les isolats provenant de malades atteints de mucoviscidose [21].

3.3. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones, en particulier la ciprofloxacine, sont souvent utilisées dans le traitement des infections à *P. aeruginosa*, ce qui a conduit à l'émergence des résistances acquises au sein de l'espèce. Deux principaux mécanismes conduisent à la résistance de haut niveau aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa* : des changements structurels dans les enzymes ADN gyrase et topo-isomérase IV qui représentent les cibles des FQs et l'efflux actif. Chacune de ces deux enzymes est formée de deux sous-unités, GyrA et GyrB, ParC et ParE, respectivement [20].

3.3.1. Résistance par modification de la cible

La modification de la cible primaire pour les fluoroquinolones (ADN gyrase, également connue sous le nom de topo-isomérase II) se produit par des mutations ponctuelles dans la région où se fixe l'antibiotique appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Regions) dans les gènes *gyrA* / *gyrB*, qui code les deux sous unités de l'enzyme ADN gyrase [28].

Les modifications de la cible secondaire (topo-isomérase IV) se produisent à la suite des mutations ponctuelles dans les gènes *parC* et *parE* codant deux sous-unités de cette enzyme [28].

3.3.2. Résistance par efflux actif

La surproduction des pompes d'efflux MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ et MexEF-OprN est à l'origine d'une résistance modérée aux fluoroquinolones ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques. Ainsi, le haut niveau de résistance aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa* est attribuable à l'association des surproductions de pompes à efflux et des mutations dans les gènes codant l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV [28].

3.4. Résistance à la fosfomycine

La fosfomycine est un bon antibiotique anti-pyocyanique de deuxième intention. Les résistances sont dues à une diminution de la perméabilité. Il ne faut jamais l'utiliser seul pour éviter l'émergence rapide de mutants résistants [29].

PARTIE 02
PARTIE PRATIQUE

Introduction

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou, il s'agit d'une étude statistique rétrospective de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au niveau des différents services de cet établissement hospitalier durant l'année 2015.

Divers prélèvements ont été acheminés au service de microbiologie du CHU de T.O pendant l'année 2015, provenant des patients hospitalisés dans les différents services de cet établissement hospitalier. L'identification des souches a été faite en se référant aux caractères cultureux et biochimiques, et qui a permis d'isoler 208 souches des *Pseudomonas aeruginosa* pour lesquelles un antibiogramme a été réalisé selon la technique de diffusion en milieu gélosé ; les résultats obtenus sont archivés sur le logiciel WHONET 5.6, ce sont ces résultats qu'on a exploré dans le cadre de notre étude.

MATERIELS ET METHODES

Lieu et type d'étude

Il s'agit d'une étude statistique rétrospective descriptive menée au laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou sur une période d'une année, du 1er janvier 2015 au 31 décembre 2015.

Souches étudiées

L'ensemble des isolats de *P. aeruginosa* provenant des prélèvements à visée diagnostique, des malades hospitalisés dans les différents services et reçus au cours de la période d'étude ont été inclus.

Collecte des données

Elle a consisté en l'extraction des résultats de tous les antibiogrammes réalisés pendant l'année 2015 enregistrés dans la mémoire du logiciel WHONET 5.6 installé au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi Ouzou depuis 1999. Ces résultats comportaient, le numéro d'identification, le nom du patient, la date d'isolement, le germe identifié, la nature du prélèvement, ainsi que les antibiotiques testés avec leur profil de sensibilité (S, I, R).

Traitement des données et analyse statistique

Dans l'établissement des pourcentages de résistance des différentes souches du *P. aeruginosa*, les résultats « intermédiaire » ont été inclus dans la catégorie « résistant ». L'analyse descriptive des données a été faite à l'aide du Microsoft Excel 2013. Les données sont classées par la suite dans des tableaux et schématisés par des graphiques.

WHONET 5.6

WHONET est un logiciel utilisé pour la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Plusieurs pays l'utilisent. Une mise à jour régulière est faite pour ce programme, tenant compte des nouvelles recommandations des différents comités d'antibiogramme, notamment : CLSI et EUCAST.

En Algérie, ce logiciel est utilisé depuis 1999 par l'ensemble des membres du réseau de bactériologie (A.A.R.N). Grâce à cet outil, les résultats d'antibiogrammes sont saisis puis analysés par les microbiologistes. Ceci permet l'édition d'un rapport annuel d'évaluation sur les données de résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau national.

RESULTATS

1. Evolution du nombre de souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au CHU de Tizi Ouzou pendant la période 2010 à 2015

Tableau N° 03: Evolution du nombre de souches du *P. aeruginosa* au CHU T.O durant la période 2010-2015

Année	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Nombre de souches	1078	925	746	656	468	208

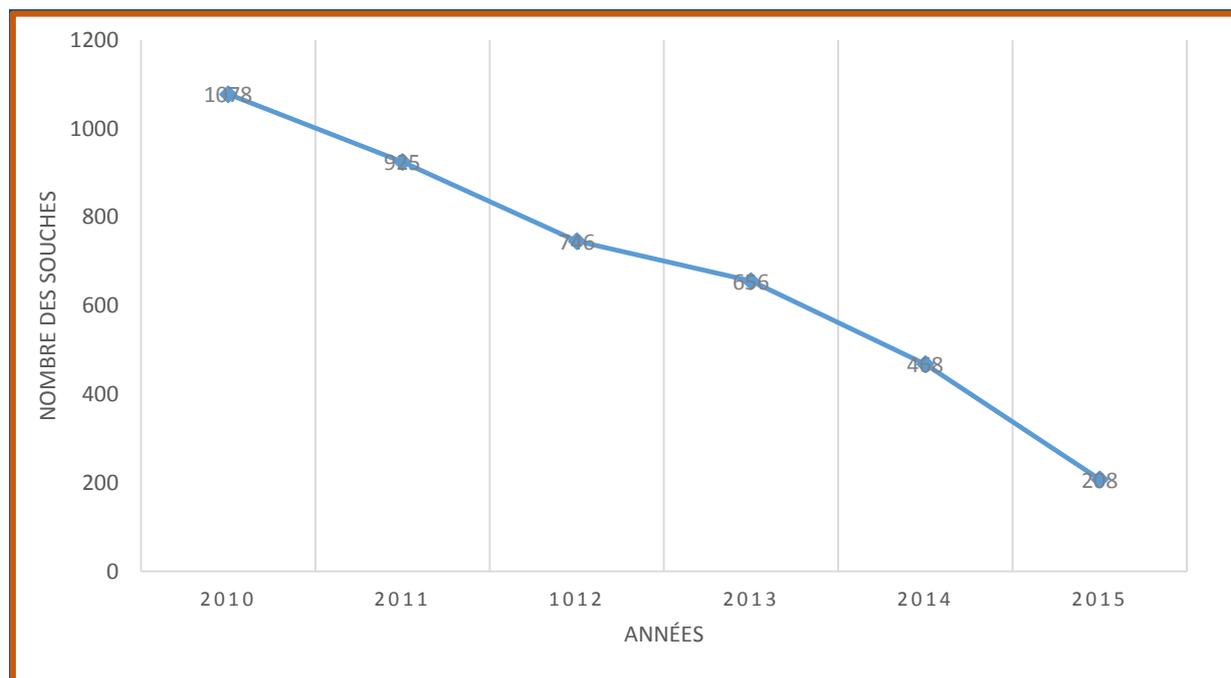


Figure N° 09 : Evolution du nombre de souches de *P. aeruginosa* durant la période 2010-2015.

Pendant les dernières cinq années, une diminution remarquable de la fréquence d'isolement du *P. aeruginosa* a été constatée au niveau du CHU T.O, en effet le nombre de souches de *P. aeruginosa* isolées à partir des prélèvements provenant des patients hospitalisés au CHU de T.O a baissé de 1078 souches en 2010 jusqu'à 208 souches en 2015 soit 80% de baisse dans les cinq ans.

2. La place du *Pseudomonas aeruginosa* parmi les germes les plus isolés au CHU de Tizi Ouzou pendant l'année 2015

Tableau N° 04 : Pourcentages des germes les plus isolés au laboratoire de microbiologie du CHU T.O pendant l'année 2015.

Germe	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacter</i> sp	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella</i> sp
Nombre de souches isolées	208	187	214	501
Pourcentage d'isolement (%)	7,83	7,04	8,06	18,87
Germe	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus</i> sp	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i> sp
Nombre de souches isolées	325	228	848	142
Pourcentage d'isolement (%)	12,24	8,58	31,93	5,34

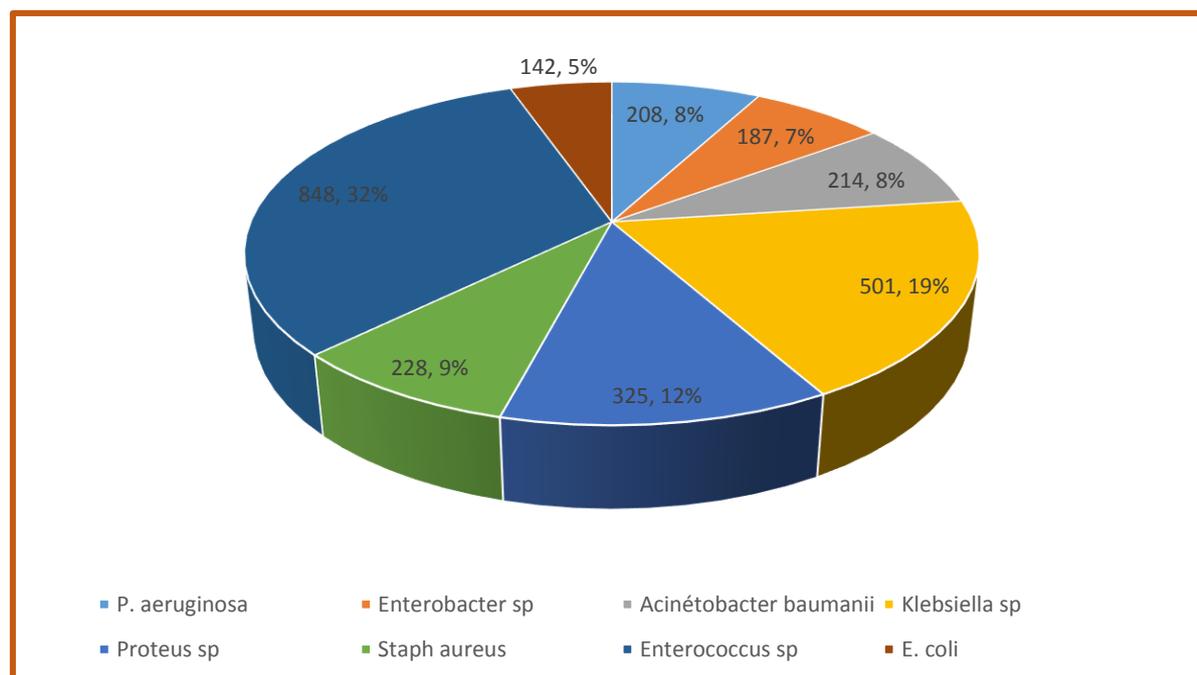


Figure N° 10 : Pourcentages des germes les plus isolés au laboratoire de microbiologie du CHU T.O pendant l'année 2015.

Les germes les plus isolés au laboratoire de microbiologie du CHU T.O sont : *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, ainsi que les différents germes des genres *Entéroococcus*, *Proteus*, *Klebsiella* et *Enterobacter*.

Parmi ces germes, le *P. aeruginosa* occupe la 6^{ème} position ; en effet l'*E. coli* est le germe le plus isolé avec 848 souches, soit 31,93%, suivi par le *Klebsiella* sp avec 501 souches soit 18,87%, puis le *Staphylococcus aureus* par 325 souches soit 12,24%, puis l'*Enterobacoccus* sp par 228 souches isolées soit 8,58%, puis l'*Acinetobacter baumannii* par 214 souches isolées soit 8,06%, le *P. aeruginosa* occupe la 6^{ème} position par 208 souches isolées soit 7,83% suivi par l'*Enterobacter* sp par 187 souches isolées soit 7,04% ,et enfin le *Proteus* sp par 142 souches, soit 5,34% du total des souches isolées .

3. Distribution du *Pseudomonas aeruginosa* selon les services du CHU T.O pendant l'année 2015

Tableau N° 05 : Fréquence d'isolement des souches de *Pseudomonas aeruginosa* selon les services du CHU T.O pendant l'année 2015.

Service	Urgences	Hématologie	Chirurgie générale	Non spécifiés	Réanimation médicale
Nombre de souches isolées	68	19	13	13	12
Pourcentage d'isolement (%)	32,69	9,13	6,25	6,25	5,76
Service	Traumato	Neurochirurgie	U-Ped	Néphrologie	Réanimation chirurgicale
Nombre de souches isolées	12	11	11	9	9
Pourcentage d'isolement (%)	5,76	5,28	5,28	4,32	4,32
Service	Maladies infectieuses	Médecine interne	Pédiatrie	Urologie	Cardiologie
Nombre de souches isolées	8	7	6	4	2
Pourcentage d'isolement (%)	3,84	3,36	2,88	1,92	0,96

Service	Néonatalogie	ORL	Chirurgie générale
nombre de souches isolées	2	1	1
Pourcentage d'isolement (%)	0,96	0,48	0,48

U-Ped : Urgences pédiatriques ; **ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie.

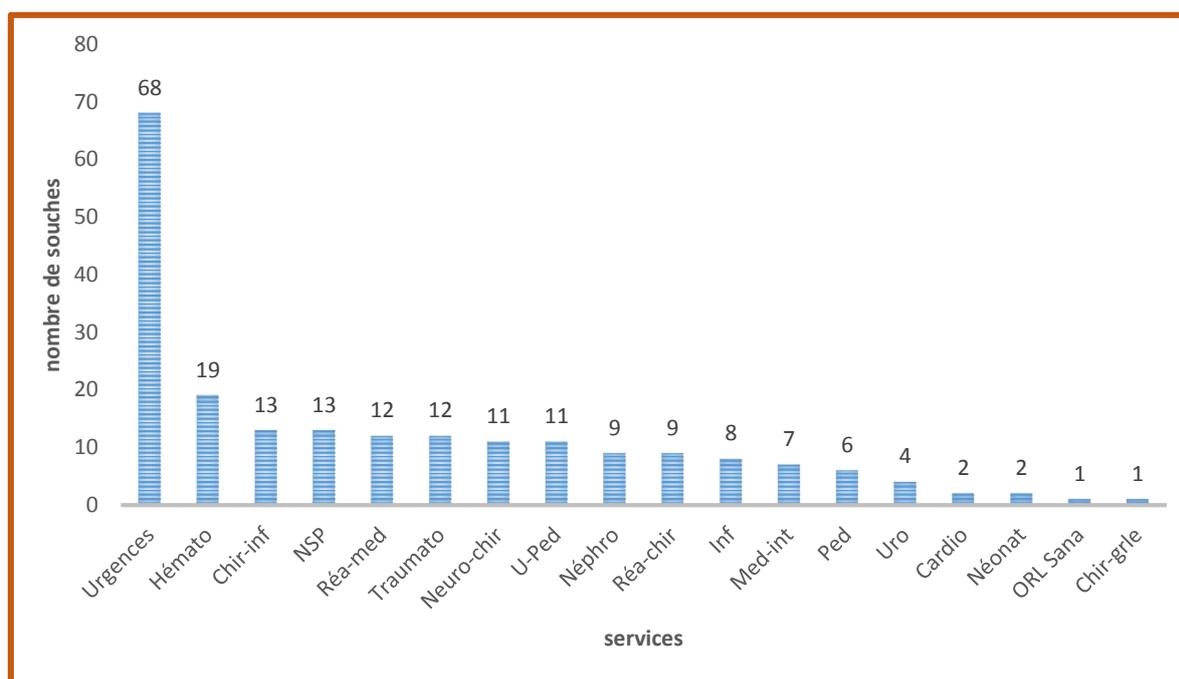


Figure N° 11 : Fréquence d'isolement des souches de *Pseudomonas aeruginosa* selon les services pendant l'année 2015.

URO : Urologie ; **Hémato** : Hématologie ; **Cardio** : Cardiologie ; **Chir-inf** ; **NSP** : Non spécifiés ; **Réa-med** : Réanimation médicale ; **Traumatolo** : Traumatologie ; **Neuro-chir** : Neurochirurgie ; **U-Ped** : Urgences pédiatriques ; **Néphro** : Néphrologie ; **Réa-chir** : Réanimation chirurgicale ; **Inf** : Infectieuses ; **Med-int** : Médecine interne ; **Ped** : pédiatrie ; **Néonat** : néonatalogie ; **Chir-grle** : Chirurgie générale.

le service le plus touché par le *P. aeruginosa*, est celui des urgences, où on a isolé 68 souches de *P. aeruginosa* qui représentent 32,7% du nombre total des souches isolées, suivi par le service d'hématologie, par 19 souches soit 9,13% du nombre total des souches isolées, suivi respectivement, par les services de chirurgie infantile (13 souches soit 6,25%), la réanimation médicale et la traumatologie (12 souches soit 5,76%), la neurochirurgie et les urgences pédiatriques (11 souches soit 5,28%), la réanimation chirurgicale et la néphrologie (9 souches soit 4,32%), les maladies infectieuses (8 souches soit 3,84%), la médecine interne (7 souches

soit 3,36%), la pédiatrie (6 souches soit 2,88%), l'urologie (4 souches soit 1,92%), la néonatalogie et la cardiologie (2 souches soit 0,96%), alors que la fréquence d'isolement la plus faible a été enregistrée dans le service de chirurgie générale et le service ORL par une seule souche isolée dans chacun des deux services soit 0,48% du nombre total des souches isolées au CHU T.O pendant l'année 2015, à noter l'existence de 13 souches, dont le service de provenance n'a pas été mentionné lors de l'enregistrement du résultat sur le logiciel WHONET 5.6

4. Fréquence d'isolement du *P. aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 par type de prélèvement

Tableau N° 06 : Fréquence d'isolement du *Pseudomonas aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 par type de prélèvement.

Prélèvement	Pus	Urines	Sang	Prélèvements Bronchiques	LCR	Autres
Nombre de souches isolées	95	28	21	18	6	5
Pourcentage d'isolement (%)	54,9	16,2	12,1	10,4	3,5	2,9

-Autre : Regroupe les prélèvements suivants : liquide gastrique, liquide pleural et liquide articulaire.

-LCR : Liquide céphalo-rachidien ;

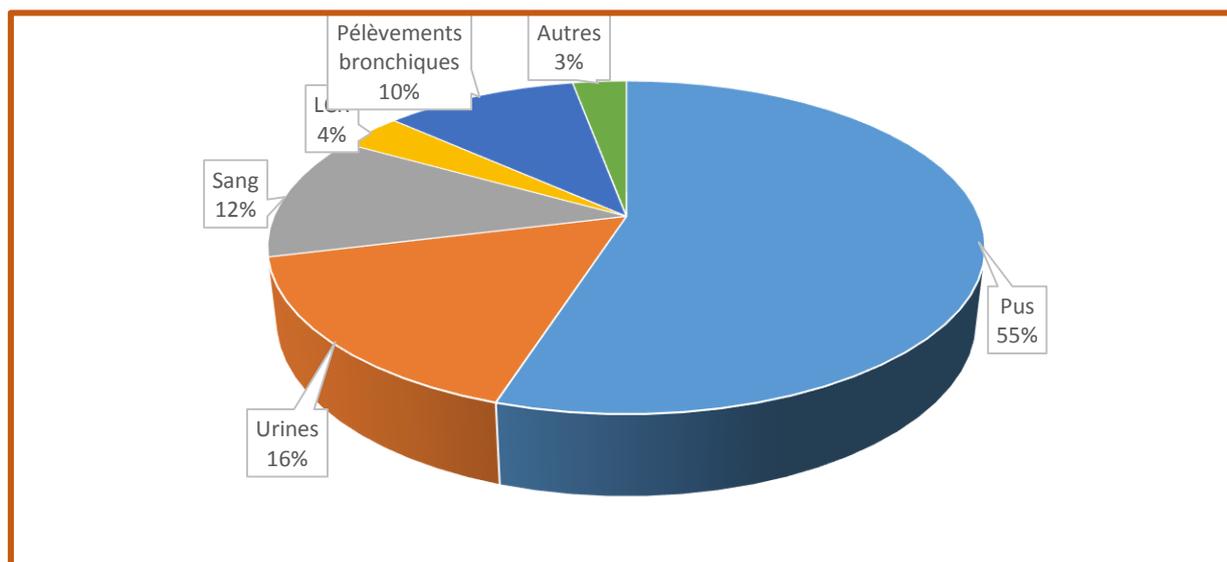


Figure N° 12 : Fréquence d'isolement du *Pseudomonas aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 par type de prélèvement.

Le *P. aeruginosa* est recherché dans différents types de prélèvements : les pus, les urines, le sang, le LCR, les prélèvements bronchiques ainsi que dans le liquide de dialyse, liquide gastrique et le liquide articulaire (classés dans le tableau ci-dessus dans le groupe : autre). Pendant l'année 2015, plus de la moitié des souches de *P. aeruginosa*, au CHU.T.O, ont été isolées des pus, soit 55% du nombre total des souches isolées, les urines viennent en deuxième position, en effet 16% des souches ont été isolées à partir des urines, suivi par le sang où 12% des souches ont été isolées, puis les prélèvements bronchiques par 10% du nombre total des souches isolées, le LCR par 4% du nombre total des souches isolées, et en fin les trois autres prélèvements, par 3% du nombre total des souches isolées.

5. Distribution du *Pseudomonas aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 selon le sexe

Tableau N° 07 : Fréquence d'isolement du *P. aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 selon le sexe.

Sexe	Masculin	Féminin
Nombre de souches isolées	117	91
Pourcentage d'isolement(%)	56,31	43,68

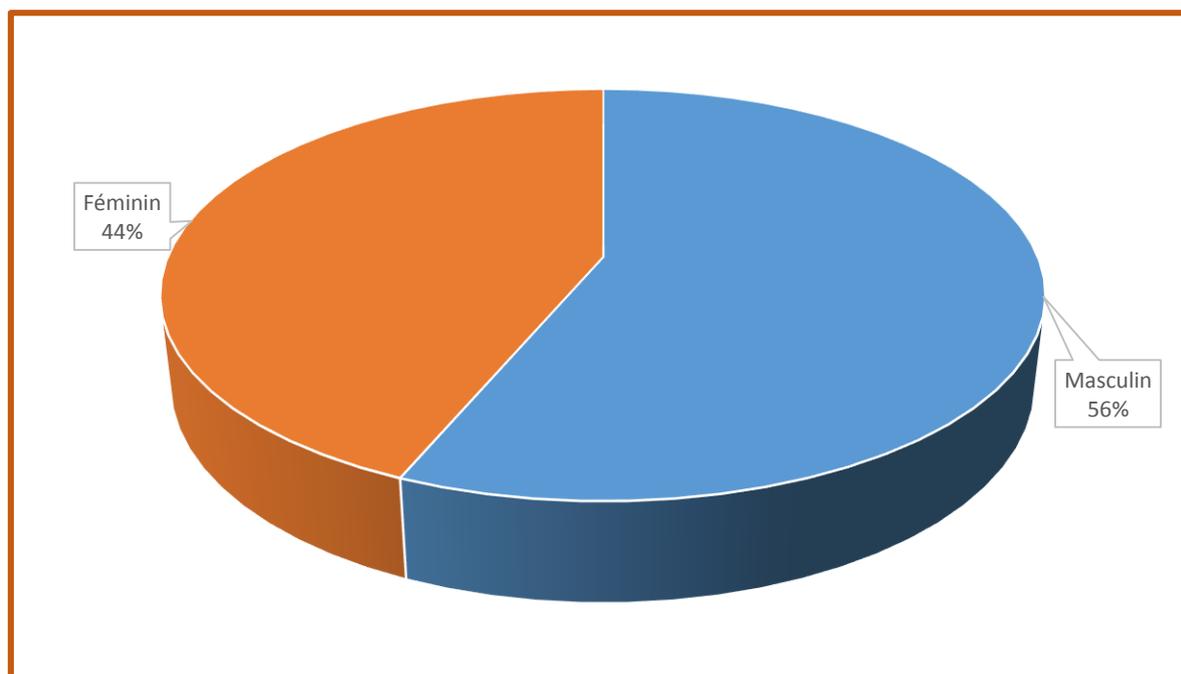


Figure N° 13 : Fréquence d'isolement du *P. aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015 selon le sexe.

Sur les 208 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au CHU T.O pendant l'année 2015, il n'y a pas eu une grande différence entre les deux sexes, en effet 44% des souches ont été isolées à partir des prélèvements provenant des patients de sexe féminin, et 56% des souches ont été isolées à partir des prélèvements provenant des patients de sexe masculin, les pourcentages sont très proches. Cela peut être expliqué par le fait que *P. aeruginosa* n'a pas de tropisme particulier selon le sexe.

6. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU T.O pendant l'année 2015

6.1. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des bêtalactamines

Six antibiotiques appartenant à la famille des bêtalactamines sont testés dans l'antibiogramme du *P. aeruginosa*, il s'agit de la pipéracilline, la ticarcilline, la ticarcilline + l'acide clavulanique, l'imipénème, la céftazidime et l'aztréonam.

6.1.1. Résistance à la pipéracilline

Tableau N° 08 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la pipéracilline.

ATB	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
PIP	187	151	80,7	36	19,3

ATB : Antibiotique ; NBR : Nombre ; PIP : Pipéracilline.

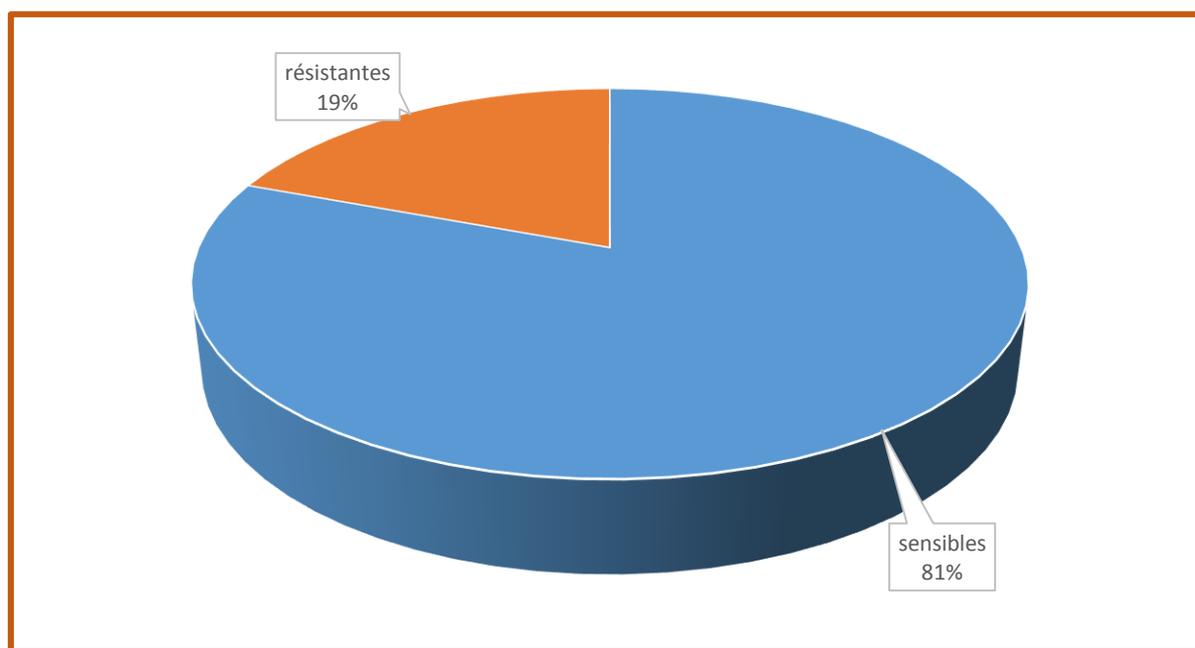


Figure N° 14 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la pipéracilline.

Sur 187 souches de *P. aeruginosa* testées pour la pipéracilline par un antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, 151 souches sont avérées sensibles soit 81% du total

des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 36 souches sont avérées résistantes soit 19% du total des souches testées pour cet ATB.

6.1.2. Résistance à la ticarcilline

Tableau N° 09 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la ticarcilline.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité (%)	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance (%)
Ticarcilline	156	133	85,3	23	14,7

NBR : nombre.

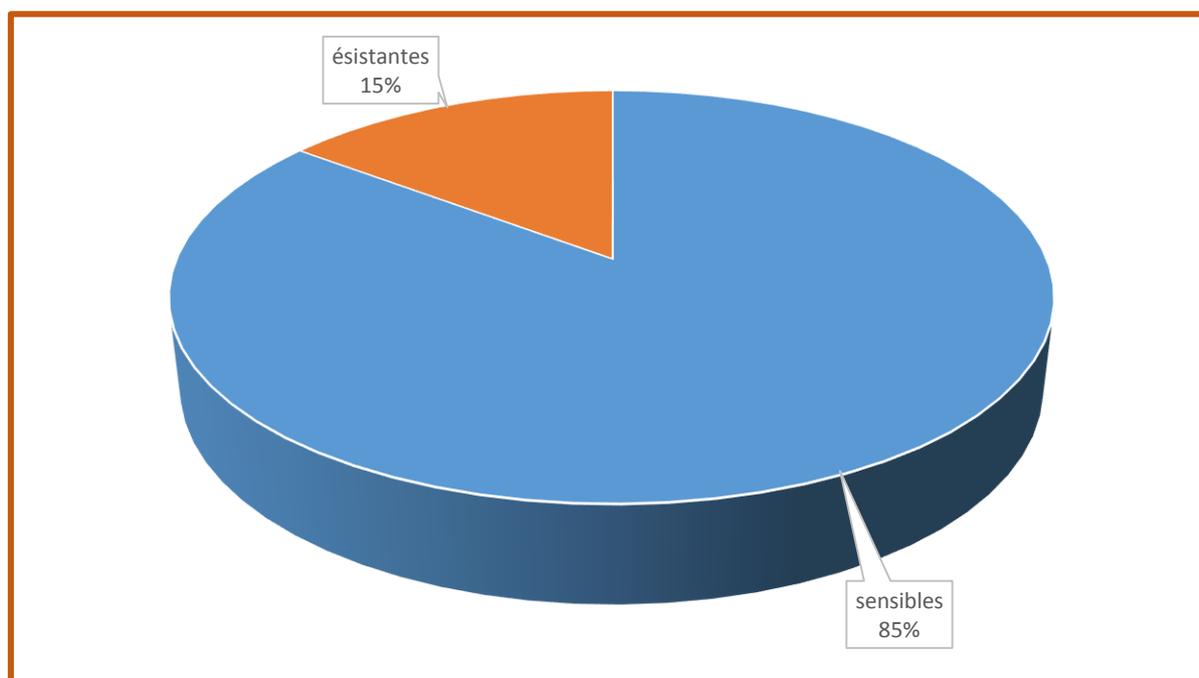


Figure N° 15 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la ticarcilline.

Sur 156 souches de *P. aeruginosa* testées pour la ticarcilline par un antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, 133 souches sont avérées sensibles soit 85% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 23 souches sont avérées résistantes soit 15% du total des souches testées pour cet ATB.

6.1.3. Résistance à l'association ticarcilline + acide clavulanique

Tableau N° 10 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'association ticarcilline + acide clavulanique.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance
TCC	202	80	39,6	122	60,4

NBR : Nombre ; TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique.

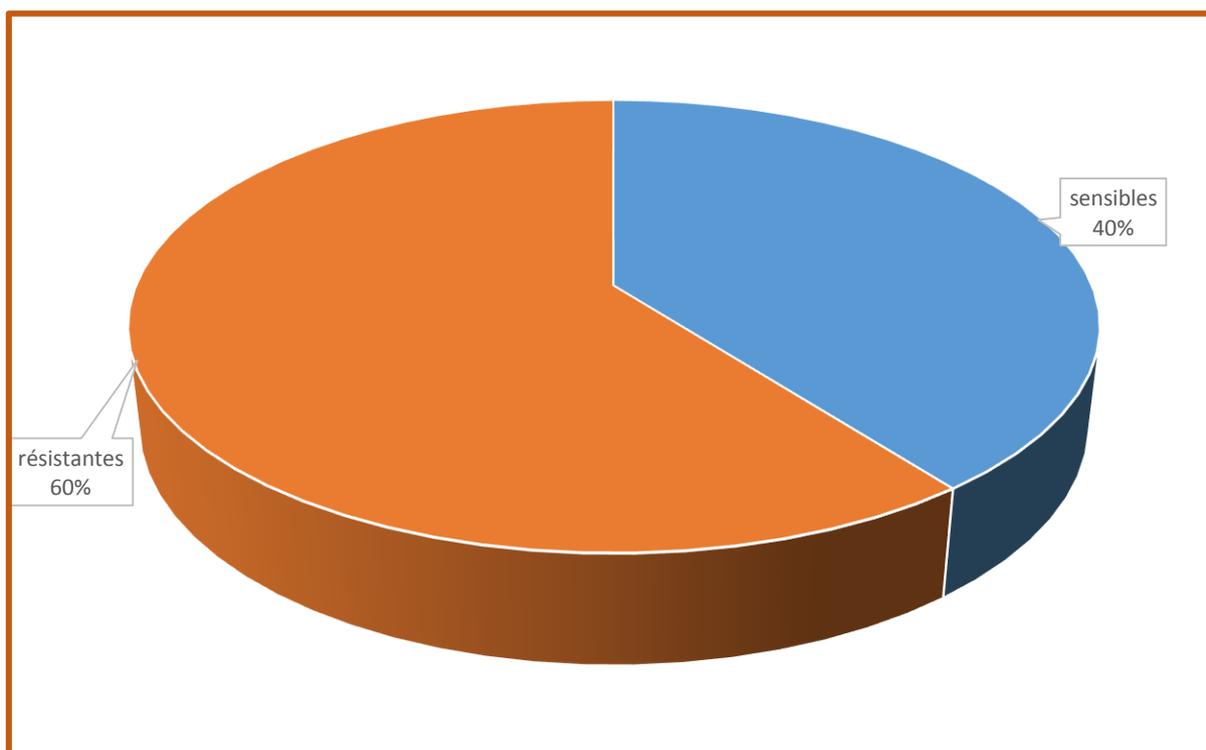


Figure N° 16 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'association ticarcilline + acide clavulanique.

Sur 202 souches de *P. aeruginosa* testées pour la TCC, 60% sont avérées résistantes soit 122 souches, alors que seulement 40% des souches sont avérées sensibles à cet ATB soit 80 souches.

6.1.4. Résistance à l'imipénème

Tableau N° 11 : Taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité (%)	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance (%)
imipénème	150	128	85,3	22	14,7

NBR : Nombre.

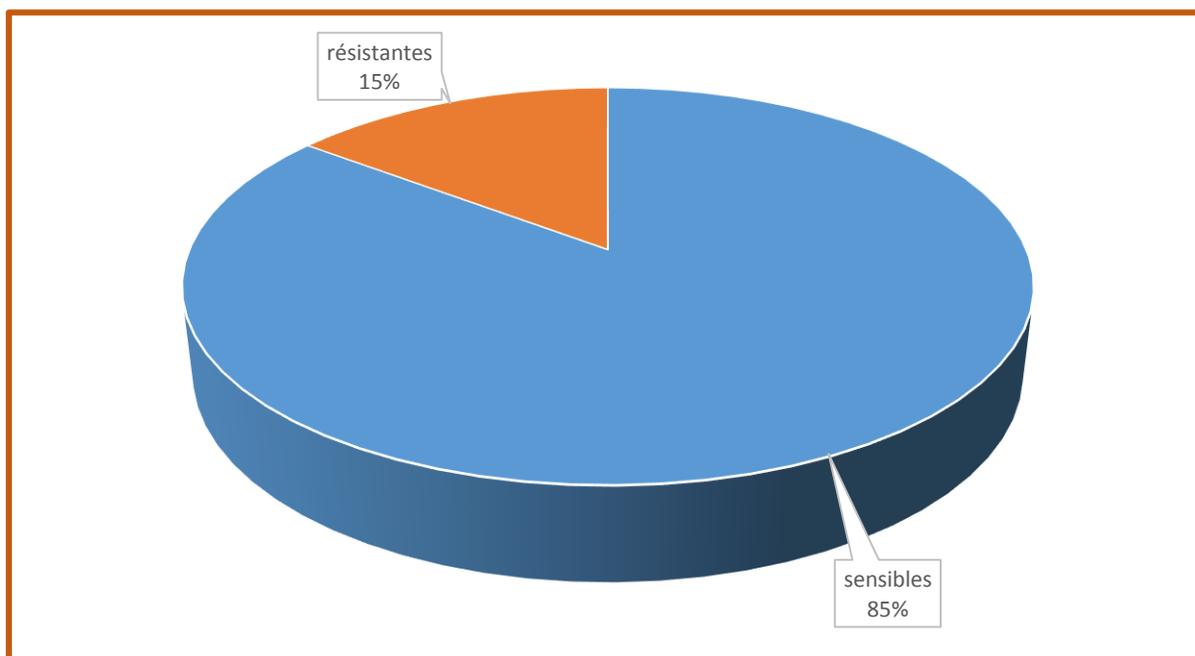


Figure N° 17 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème.

Sur 150 souches de *P. aeruginosa* testées pour l'imipénème par un antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, 128 souches sont avérées sensibles soit 85% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 22 souches sont avérées résistantes soit 15% du total des souches testées pour cet ATB.

6.1.5. Résistance à la céftazidime

Tableau N° 12 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la céftazidime.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité (%)	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance (%)
céftazidime	189	159	84,1	30	15,9

NBR : Nombre.

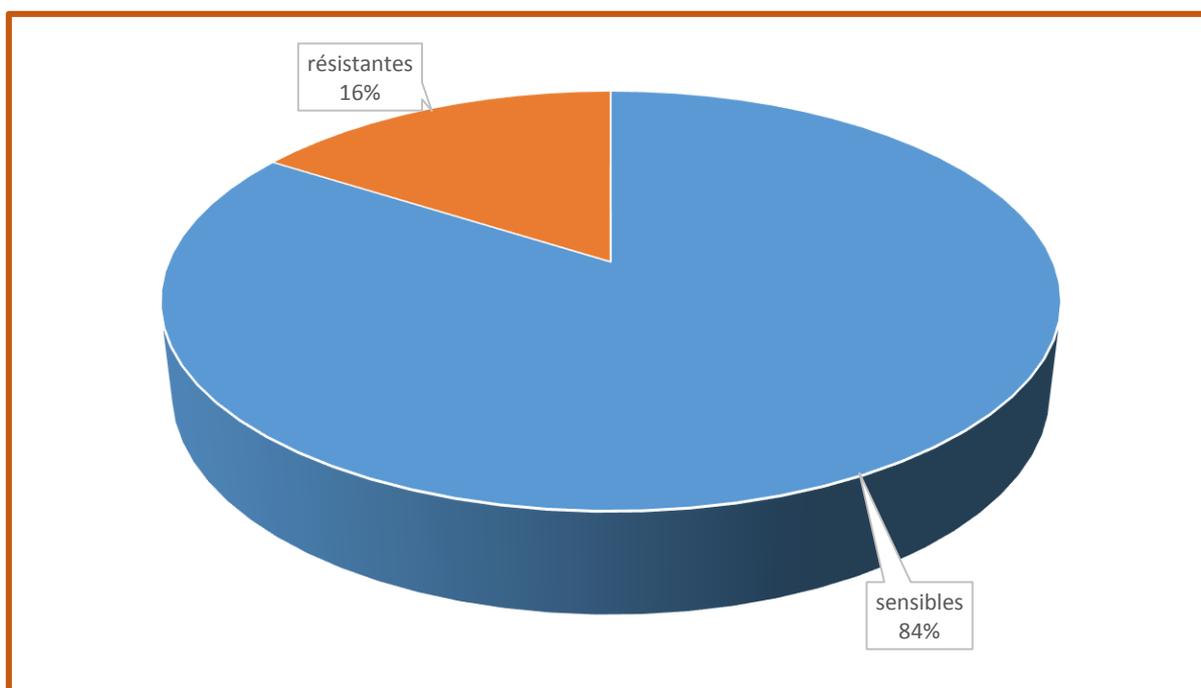


Figure N° 18 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la céftazidime.

Sur 189 souches de *P. aeruginosa* testées pour la céftazidime par un antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé au CHU T.O pendant l'année 2015, 159 souches sont avérées sensibles soit 84% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 30 souches sont avérées résistantes soit 16% du total des souches testées pour cet ATB.

6.1.6. Résistance à l'aztréonam

Tableau N° 13 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'aztréonam.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité (%)	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance (%)
aztréonam	161	108	67,1	53	32,9

NBR : Nombre.

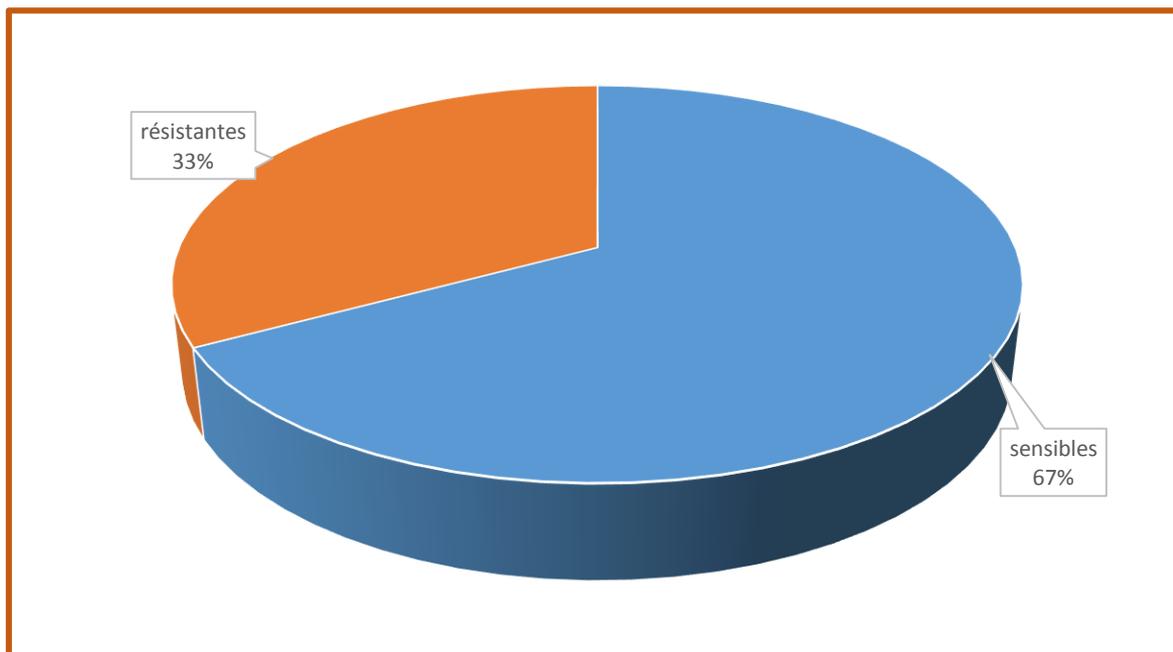


Figure N° 19 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'aztréonam.

Sur 161 souches de *P. aeruginosa* testées pour l'aztréonam par un antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, 108 souches sont avérées sensibles soit 67% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 53 souches sont avérées résistantes soit 33% du total des souches testées pour cet ATB.

6.1.7. Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au sein de la famille des bêta-lactamines

Tableau N° 14 : Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des bêta-lactamines.

Antibiotique	PIP	TIC	TCC	IMP	CAZ	ATM
NBR de souches résistantes	36	23	122	22	30	53
Taux de résistance (%)	19,3	14,7	60,4	14,7	15,9	32,9

ATM : Aztréonam ; CAZ : Céftazidime ; IPM : Imipénème ; PIP : Pipéracilline ; TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique ; TIC : Ticarcilline.

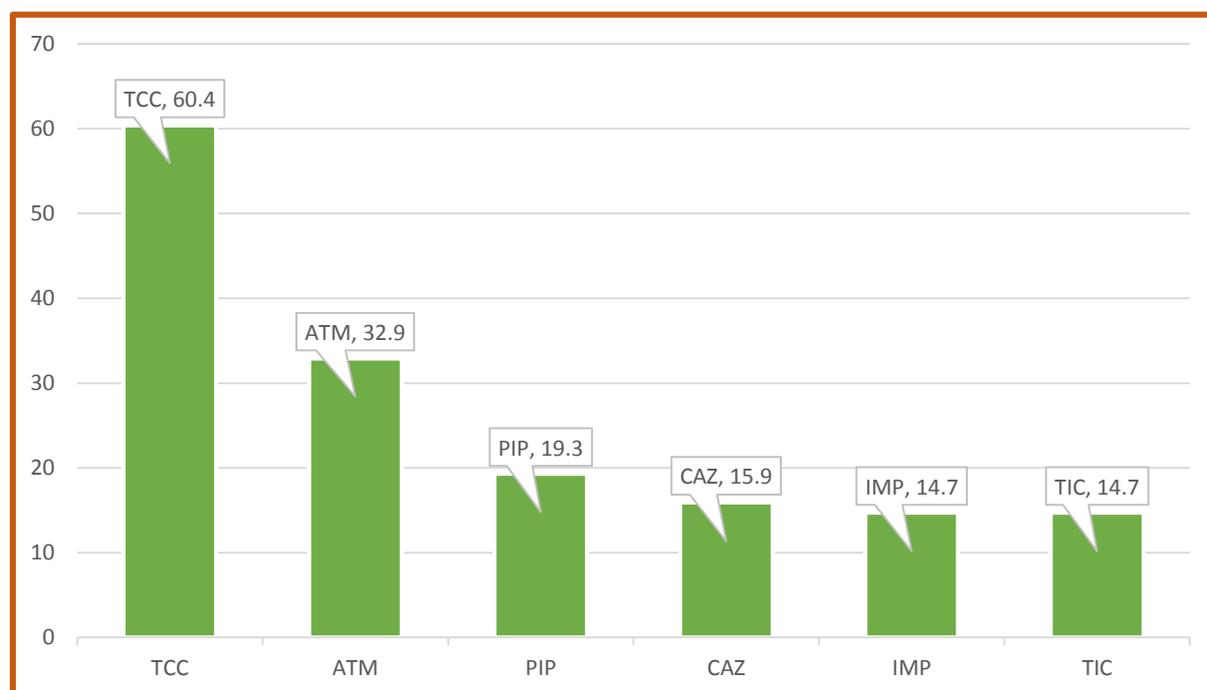


Figure N° 20 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des bêta-lactamines.

ATM : Aztréonam ; CAZ : Céftazidime ; IPM : Imipénème ; PIP : Pipéracilline ; TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique ; TIC : Ticarcilline.

Au sein de la famille des bêta-lactamines la TCC est l'antibiotique vis-à-vis duquel le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015 avec un pourcentage de résistance de 60,4% par rapport à l'ensemble des bêta-lactamines testés, suivi respectivement par l'ATM (32,9%), la PIP (19,3%), la CAZ (15,9%), la TIC et enfin l'IMP par un taux de résistance de 14,7%.

6.2. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des aminosides au CHU T.O pendant l'année 2015

Quatre antibiotiques appartenant à la famille des aminosides sont testés dans l'antibiogramme du *P. aeruginosa*, il s'agit de l'amikacine, la gentamicine, la nétilmicine et la tobramycine.

II.6.2.1. Résistance à la gentamicine

Tableau N° 15 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la gentamicine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité (%)	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance (%)
gentamicine	98	93	94,9	5	5,1

NBR : Nombre.

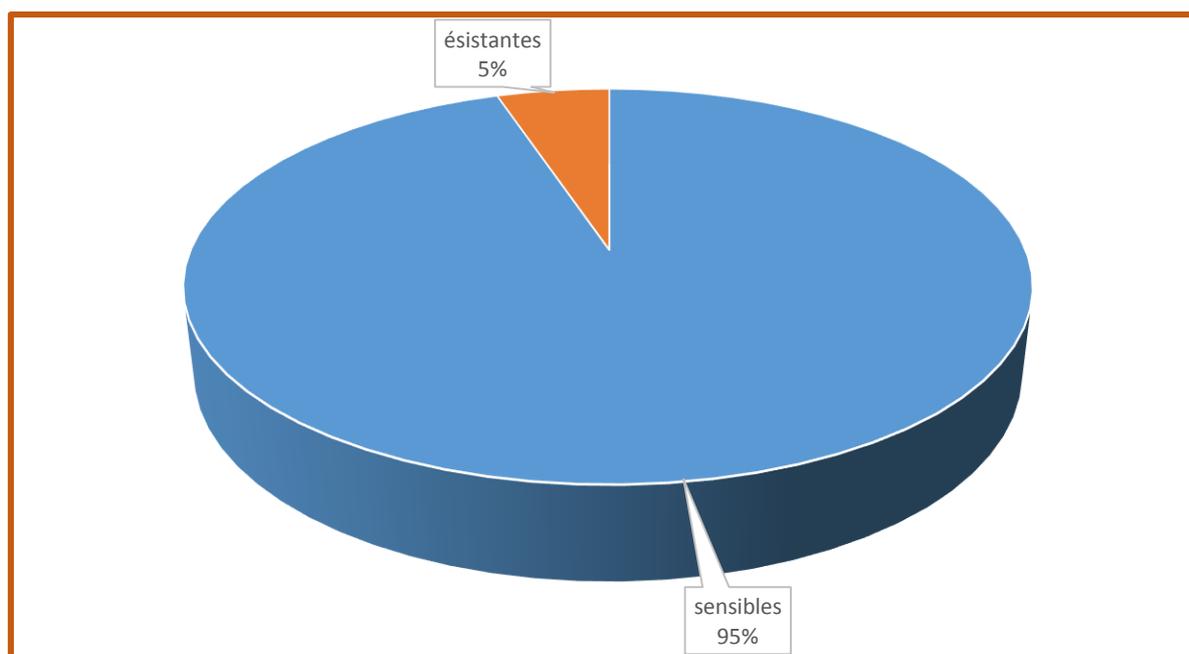


Figure N° 21 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la gentamicine.

La gentamicine est l'antibiotique de la famille des aminosides vis-à-vis duquel le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance. En effet, sur 98 souches de *P. aeruginosa* testé pour cet ATB, 95% des souches sont avérées sensibles soit 93 souches, alors que seulement 5% des souches sont avérées résistantes soit 5 souches.

6.2.2. Résistance à l'amikacine

Tableau N° 16 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à l'amikacine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
Amikacine	151	140	92,7	11	7,3

NBR : Nombre.

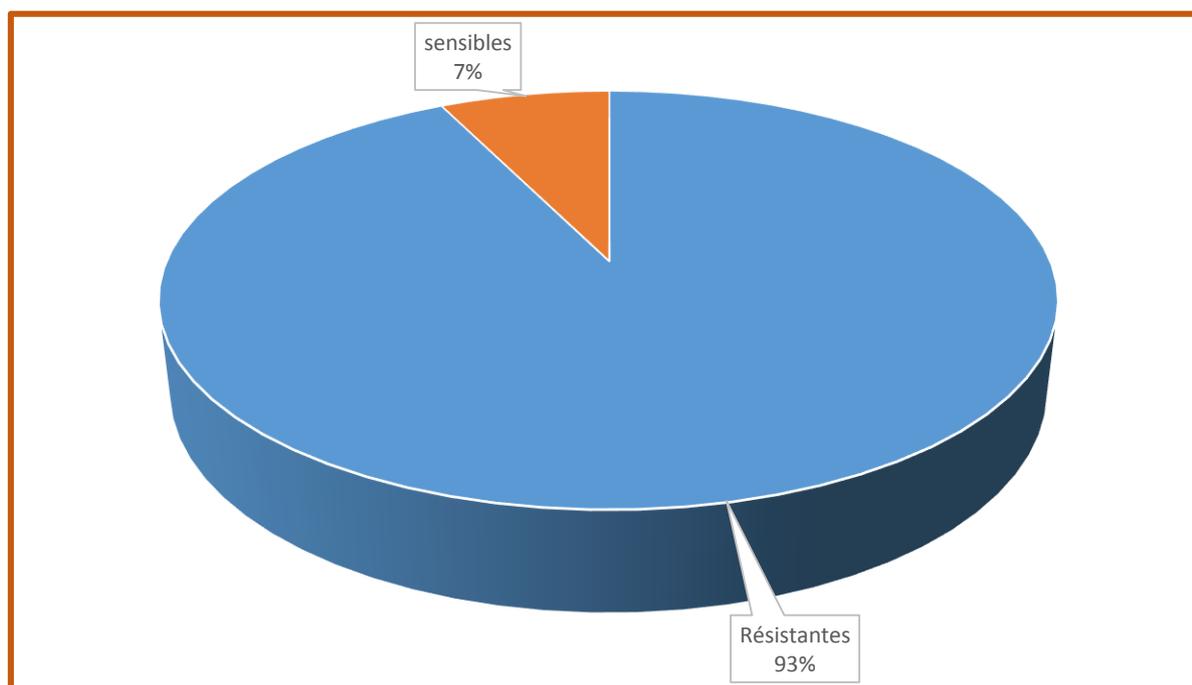


Figure N° 22 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à l'amikacine.

Comme pour la gentamicine, la résistance du *P. aeruginosa* à l'amikacine est faible, en effet, sur 151 souches testées pour cet antibiotique seulement 11 souches sont avérées résistantes à l'amikacine voire 7,3% du total des souches testées, alors que 140 souches sont avérées sensibles et qui constituent une majorité par un pourcentage de 92,3% du total des souches testées pour cet antibiotique.

6.2.3. Résistance à la nétilmicine

Tableau N° 17 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la nétilmicine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
nétilmicine	107	98	91,6	9	8,4

NBR : Nombre.

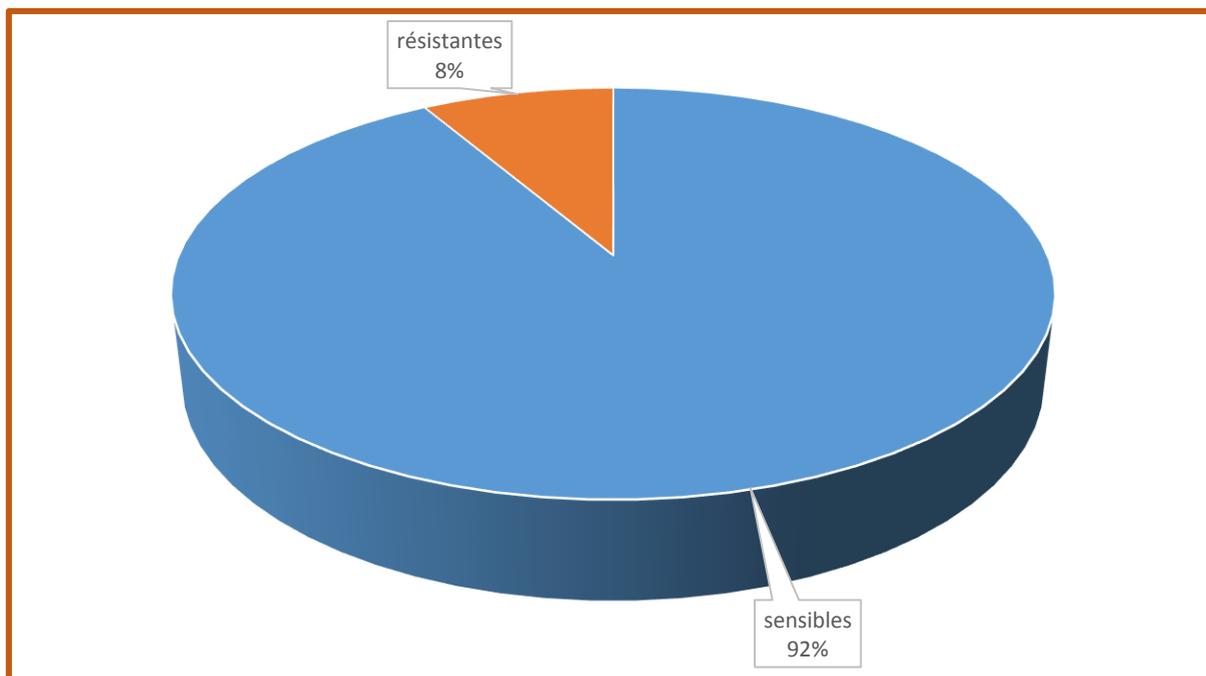


Tableau N° 23 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la nétilmicine.

Comme pour la gentamicine et l'amikacine, la résistance du *P. aeruginosa* à la nétilmicine est faible, en effet, sur 107 souches de *P. aeruginosa* testées pour cet ATB, seulement 9 sont avérées résistantes avec un pourcentage de 8% du total des souches testées, alors que le reste qui est de 98 souches sont avérées sensibles à cet ATB avec un pourcentage de 92% du total des souches testées pour cet ATB.

6.2.4. Résistance à la tobramycine

Tableau N° 18 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la tobramycine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
Tobramycine	188	151	80,3	37	19,7

NBR : Nombre.

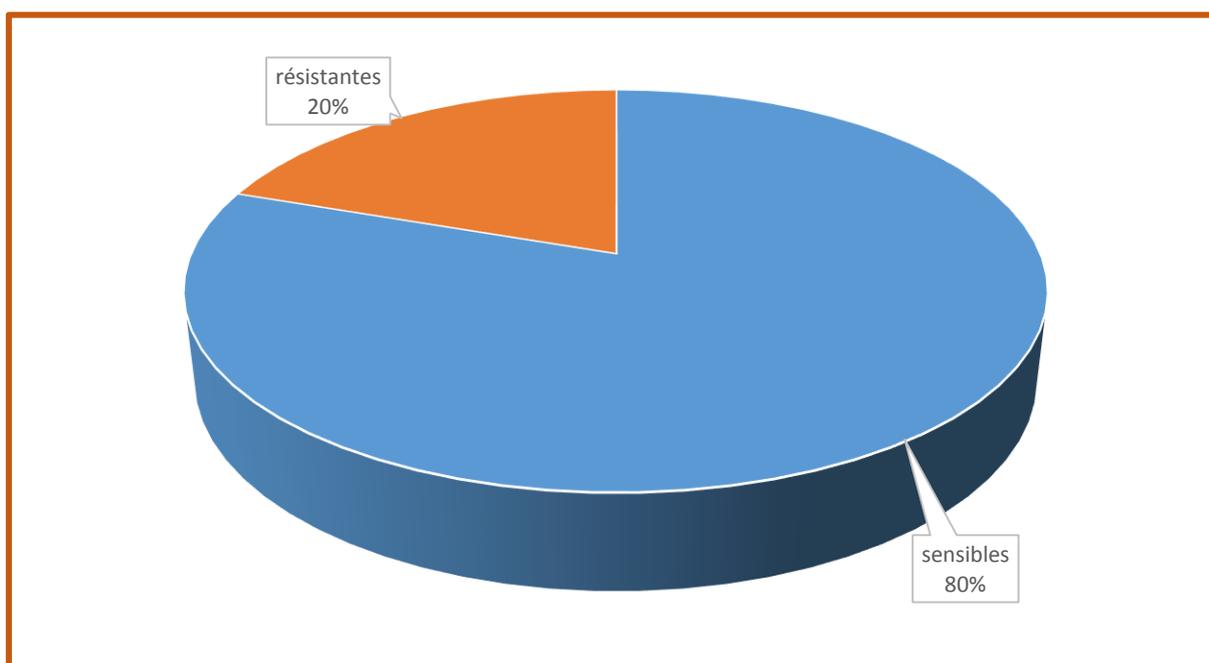


Figure N° 24 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la tobramycine.

Contrairement aux trois autres aminosides, la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* à la tobramycine est un peu plus élevée, elle est de l'ordre de 20%, en effet, sur 188 souches de *P. aeruginosa* testées pour cet ATB, 37 souches sont avérées résistantes, alors que 151 souches sont avérées sensibles avec un pourcentage de 80% du total des souches testées pour cet ATB.

6.2.5. Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au sein de la famille des aminosides

Tableau N° 19 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des aminosides.

Antibiotique	Gentamicine	Amikacine	Tobramycine	Nétilmicine
Nombre de souches résistantes	5	11	37	9
Taux de résistance(%)	5,1	7,3	19,7	8,4

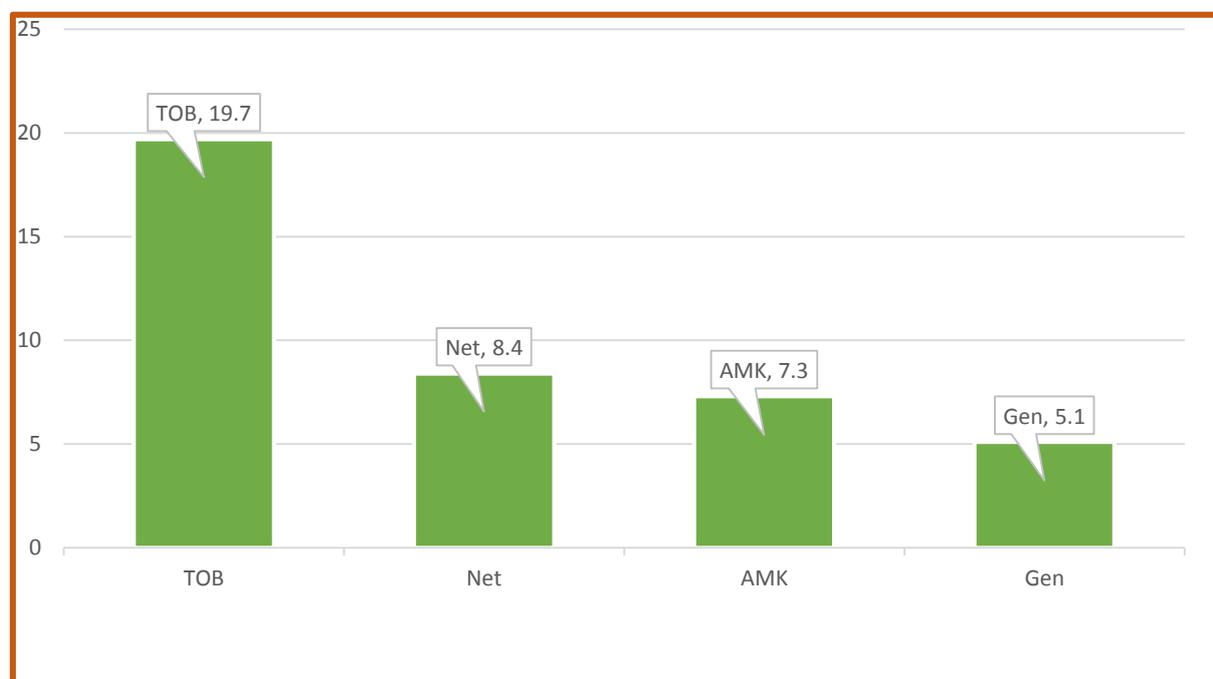


Figure N° 25 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des aminosides.

AMK : Amikacine ; GEN : Gentamicine ; NET : Nétilmicine ; TOB : Tobramycine.

Pendant l'année 2015, la plus grande résistance de *P. aeruginosa* au sein de la famille des aminosides a été développée vis-à-vis de la tobramycine par un taux de résistance de 19,7% suivi par la nétilmicine par un taux de résistance de 8,4% puis l'amikacine par un taux de résistance de 7,3%, alors que la résistance à la gentamicine est la plus faible par un taux de 5,1%.

6.3. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des quinolones au CHU T.O pendant l'année 2015

Seulement deux antibiotiques appartenant à la famille des quinolones sont testés dans l'antibiogramme du *Pseudomonas aeruginosa*, il s'agit de la ciprofloxacine et la lévofloxacine.

6.3.1. Résistance à la ciprofloxacine

Tableau N° 20 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la ciprofloxacine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
Ciprofloxacine	141	125	88,7	16	11,3

NBR : Nombre.

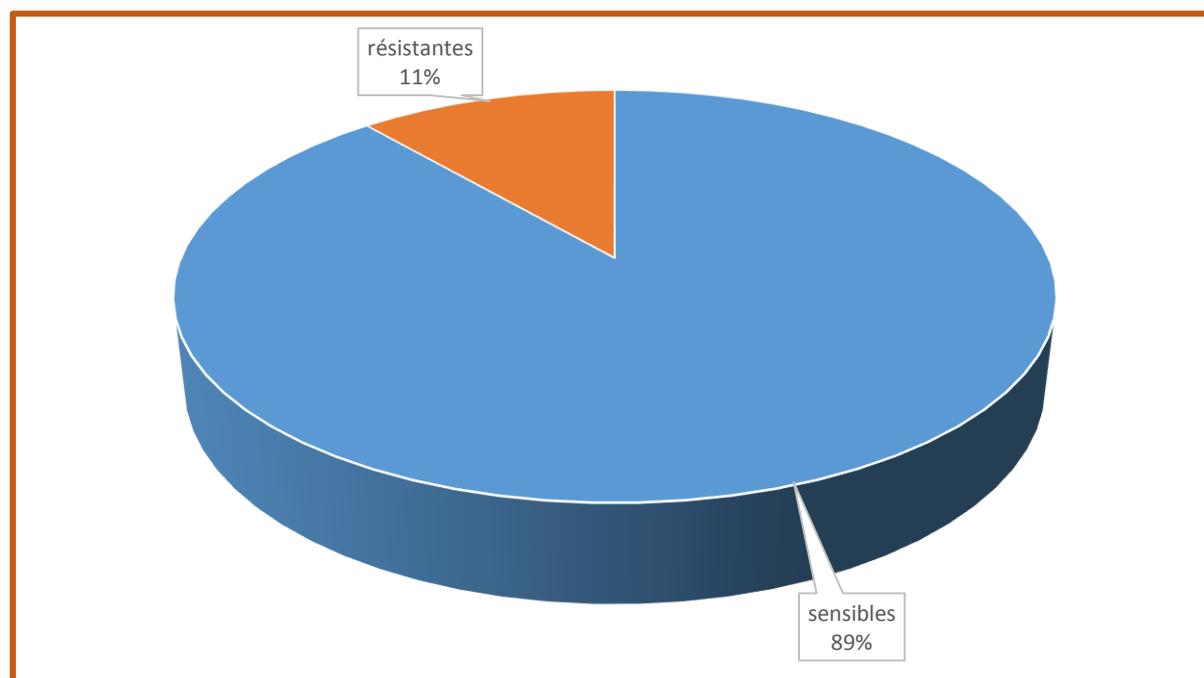


Figure N° 26 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la ciprofloxacine.

Sur 141 souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées pour la ciprofloxacine, 125 souches sont avérées sensibles voire 89% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 16 souches sont avérées résistantes voire 11% du total des souches testées pour cet ATB.

6.3.2. Résistance à la lévofloxacine

Tableau N° 21 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la lévofloxacine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
Lévofloxacine	115	101	87,8	14	12,2

NBR : Nombre.

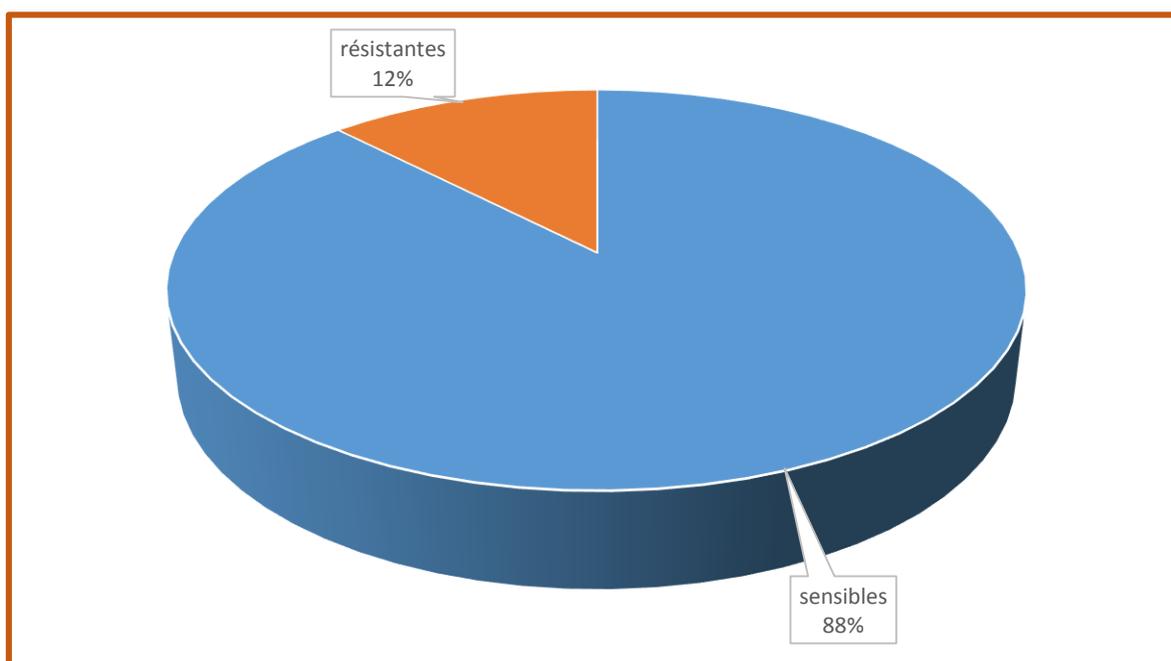


Figure N° 27 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la lévofloxacine au CHU T.O pendant l'année 2015.

Sur 115 souches de *P. aeruginosa* testées pour la lévofloxacine, 101 souches sont avérées sensibles avec un pourcentage de 88% du total des souches testées pour cet ATB, alors que seulement 14 souches sont avérées résistantes avec un pourcentage de 12% du total des souches testées pour cet ATB.

6.3.3. Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au sein de la famille des quinolones

Tableau N° 22 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des quinolones.

Antibiotique	Ciprofloxacine	Lévofloxacine
NBR de souches résistantes	14	16
Taux de résistance (%)	11,3	12,2

NBR : Nombre.

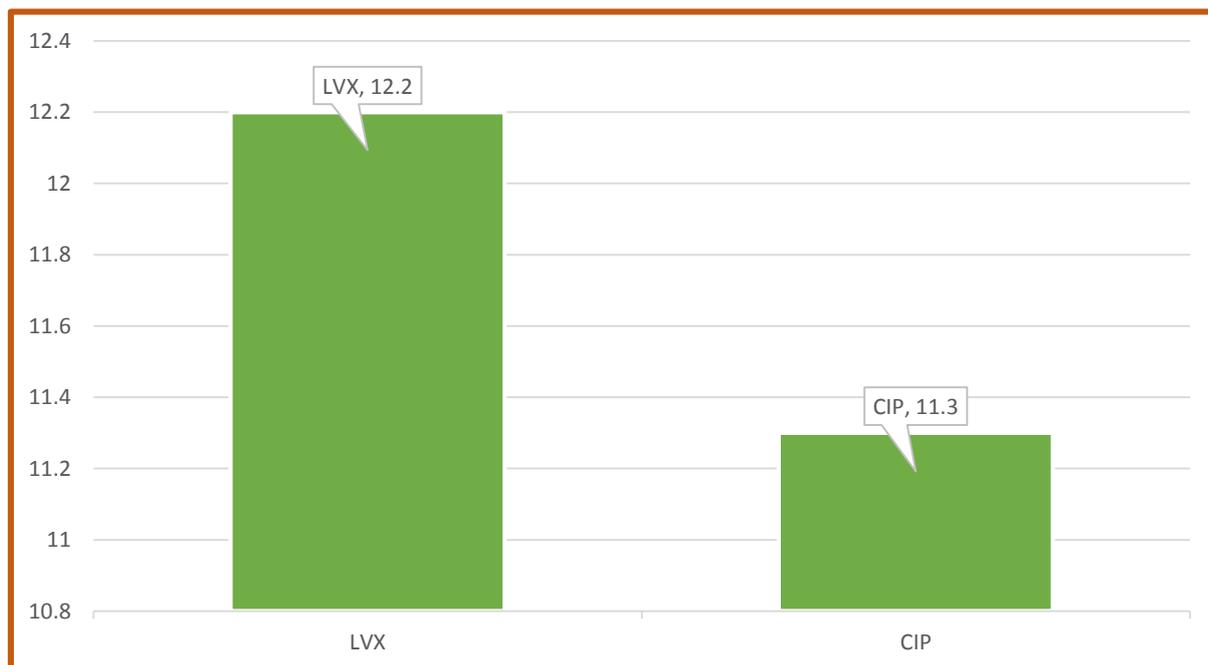


Figure N° 28 : Résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB appartenant à la famille des quinolones au CHU T.O pendant l'année 2015.

CIP : Ciprofloxacine ; LVX : Lévofloxacine.

Pendant l'année 2015, les taux de résistance du *P. aeruginosa* aux deux ATB appartenant à la famille des quinolones au CHU T.O sont très proches, en effet, le taux de résistance à la ciprofloxacine est de 11,3% alors que celui à la lévofloxacine est de 12,2%.

6.4. Résistance aux autres ATB

Deux autres ATB sont testés dans l'antibiogramme du *P. aeruginosa*, il s'agit de la fosfomycine et la colistine.

6.4.1. Résistance à la fosfomycine

Tableau N° 23 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la fosfomycine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
fosfomycine	43	26	60,5	17	39,5

NBR : Nombre.

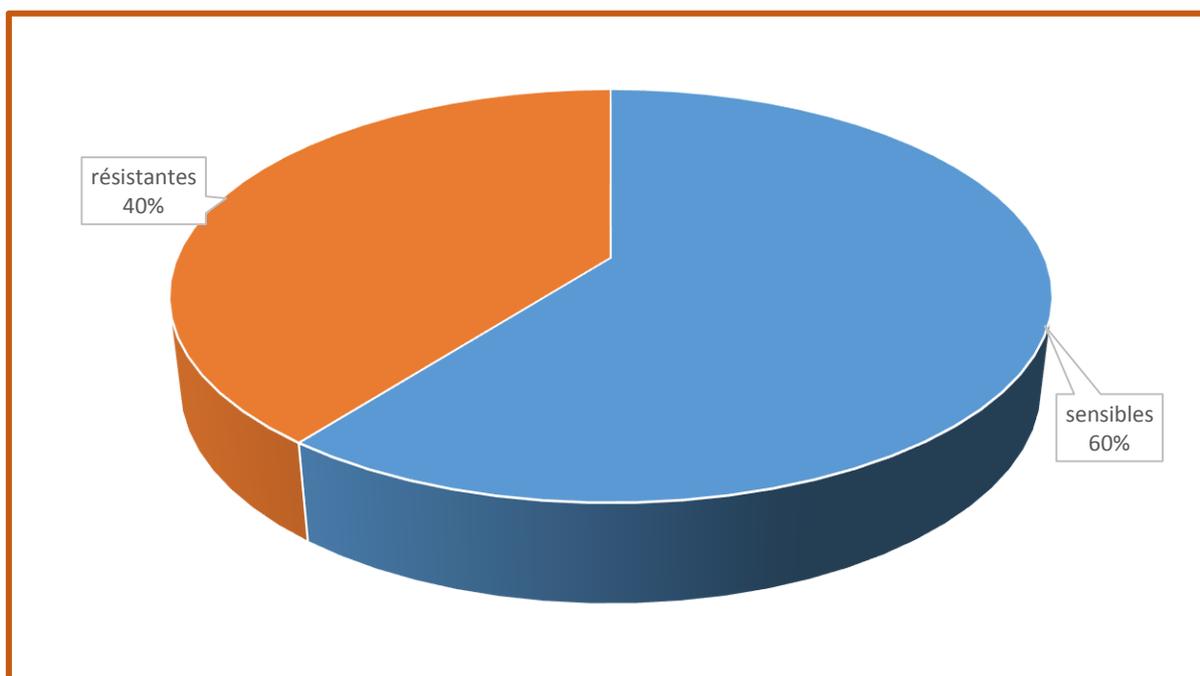


Figure N° 29 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la fosfomycine.

Le taux de résistance de *P. aeruginosa* à la fosfomycine est de l'ordre de 40% soit 17 souches sur un total de 43 souches testées pour cet ATB, alors que le taux de sensibilité est de l'ordre de 60% soit 26 souches sur le total des souches testées pour cet ATB.

6.4.2. Résistance à la colistine

Tableau N° 24 : Taux de résistance de *P. aeruginosa* à la colistine.

Antibiotique	NBR de souches testées	NBR de souches sensibles	Pourcentage de sensibilité %	NBR de souches résistantes	Pourcentage de résistance %
Colistine	120	120	100	0	0

NBR : Nombre.

Sur 120 souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées pour la colistine, la totalité est sensible, au CHU T.O, *Pseudomonas aeruginosa* est à 100% sensible à la colistine.

6.5. Classement des pourcentages de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB par ordre décroissant

Tableau N° 25 : Classement des taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques par ordre décroissant.

ATB	TCC	FOS	ATM	TOB	PIP	CAZ	IPM
Taux de Résistance (%)	60,3	39,5	32,9	19,7	19,3	15,9	14,7
ATB	TIC	LVX	CIP	NET	AMK	GEN	
Taux de Résistance (%)	14,7	12,2	11,3	8,4	7,3	5,1	

AMK : Amikacine ; **ATB** : Antibiotique ; **ATM** : Aztréonam ; **CAZ** : Céftazidime ; **CIP** : Ciprofloxacine ; **COL** : Colistine ; **FOS** : Fosfomycine ; **GEN** : Gentamicine ; **IPM** : Imipénème ; **LVX** : Lévofloxacine ; **NBR** : Nombre ; **TCC** : Ticarcilline + Acide clavulanique ; **TIC** : Ticarcilline ; **TOB** : Tobramycine.

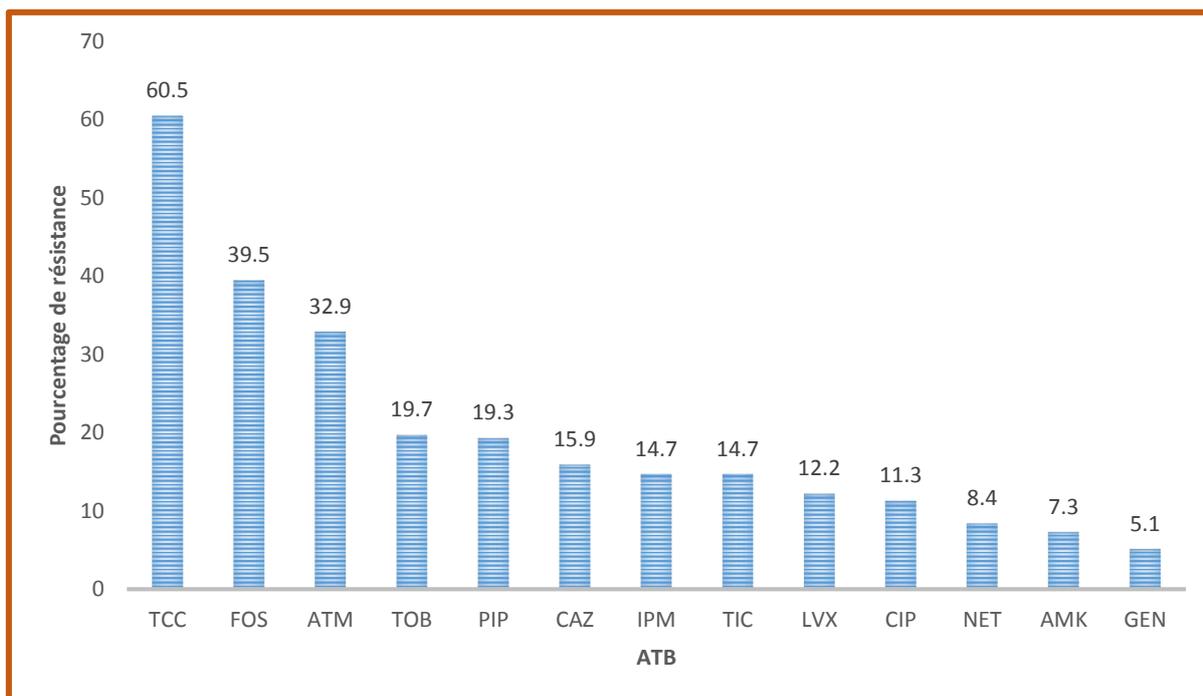


Figure N° 30 : Classement des taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques par ordre décroissant.

AMK : Amikacine ; **ATB :** Antibiotique ; **ATM :** Aztréonam ; **CAZ :** Céftazidime ; **CIP :** Ciprofloxacine ; **COL :** Colistine ; **FOS :** Fosfomycine ; **GEN :** Gentamicine ; **IPM :** Imipénème ; **LVX :** Lévofloxacine ; **TCC :** Ticarcilline + Acide clavulanique ; **TIC :** Ticarcilline ; **TOB :** Tobramycine.

Comme le tableau et le graphique si dessus le montrent, l'antibiotique vis-à-vis duquel le *P. aeruginosa* a développée plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015 est la TCC avec un taux de résistance de 60%, suivi par la FOS avec un taux de résistance de 40%, suivi par l'ATM avec un pourcentage de résistance de 32%, puis respectivement, la TOB (19,7%), la PIP (19,3%), la CAZ (15,9%), l'IPM (14,7%), la TIC (14,7%), la LVX (12,2%), la CIP (11,3%), la NET (8,4%), l'AMK (7,3%) et enfin la gentamicine avec le plus faible taux de résistance qui est de l'ordre de 5,1%.

6.6. Comparaison des taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* par classes d'antibiotiques

Tableau N° 26 : Taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* par classe d'antibiotiques.

Classes d'antibiotique	bétalactamines	aminosides	quinolones
Taux de résistance (%)	26,31	10,12	11,75

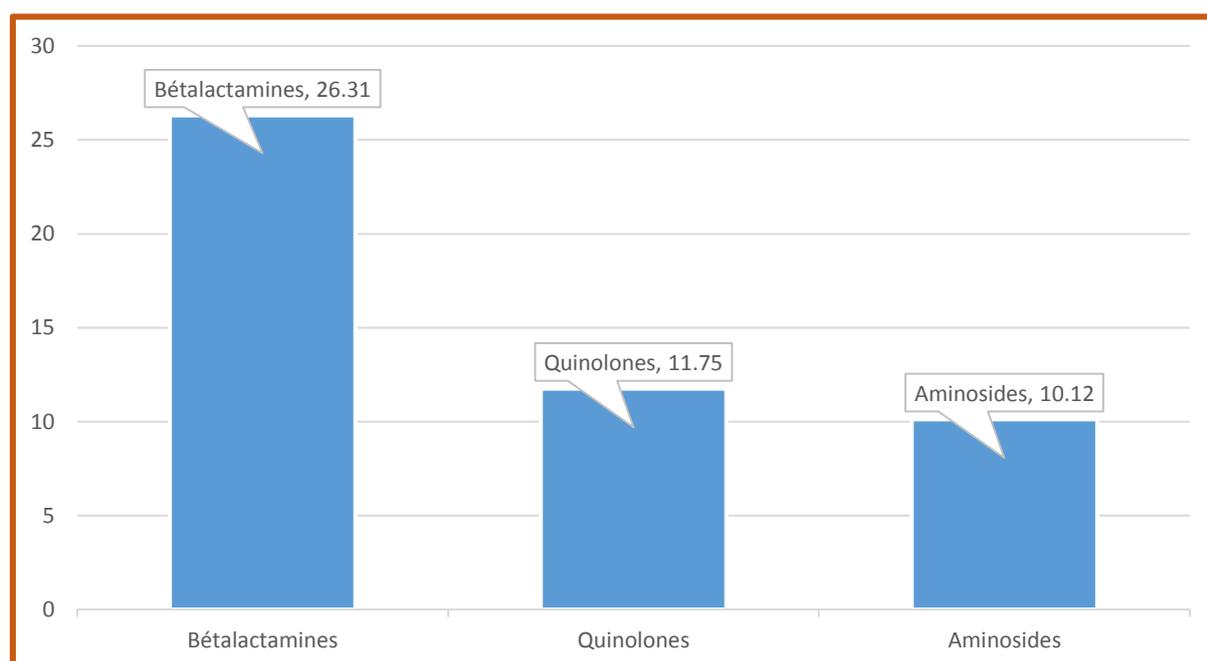


Figure N° 31 : Taux de résistance du *Pseudomonas aeruginosa* par classe d'antibiotiques.

Comme le tableau et le graphique ci-dessus le montrent, la classe d'antibiotiques vis-à-vis de laquelle le *Pseudomonas aeruginosa* a développé plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015, est la classe des bétalactamines, par un taux de résistance de 26%, suivi par les quinolones par un taux de résistance de 11% et enfin la classe des aminocyclitolides qui est la classe vis-à-vis de laquelle le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015 par un taux de résistance de 10%.

6.7. Fréquence des BLSE produites par *Pseudomonas aeruginosa* au CHU T.O pendant l'année 2015

Tableau N° 27 : Fréquence des BLSE produites par *Pseudomonas aeruginosa*.

	BLSE+	BLSE-
Nombre de souches	29	179
Pourcentage (%)	14	86

BLSE : Bétalaclames à spectre étendu ; (+) : Présente ; (-) : Absente.

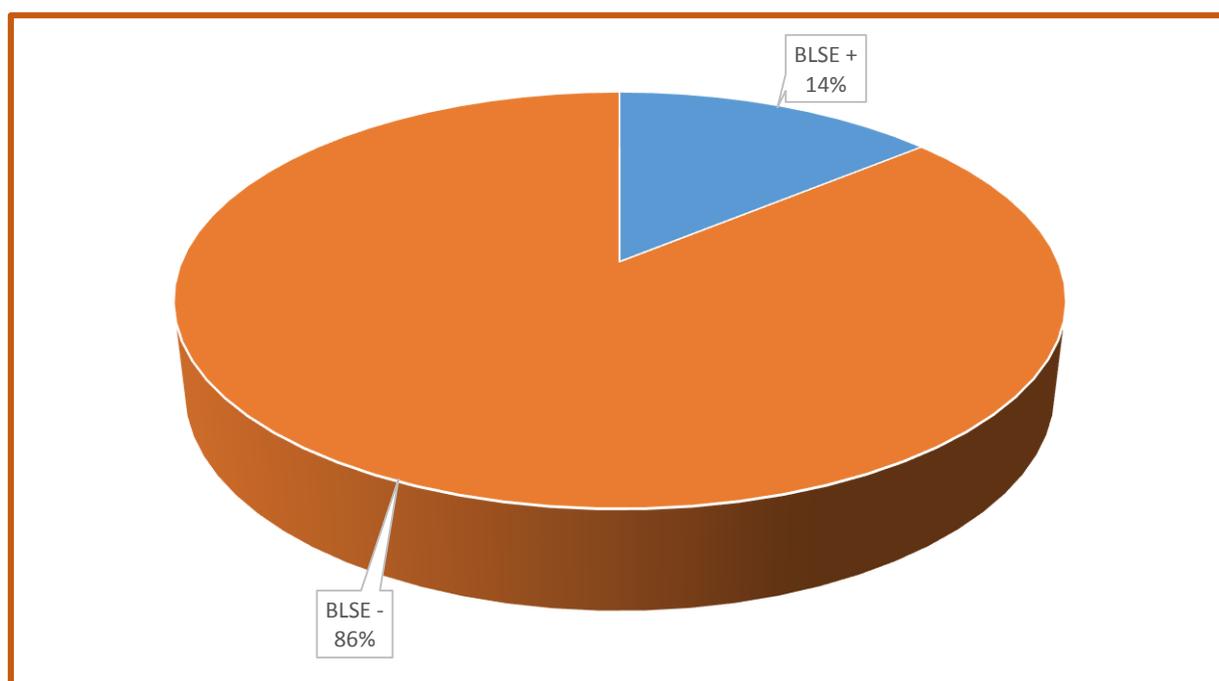


Figure N° 32 : Fréquence des BLSE produites par *Pseudomonas aeruginosa*.

Pendant l'année 2015, sur 208 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au CHU T.O seulement 29 souches sont productrices d'une BLSE avec un pourcentage de 14%, alors que la majorité des souches qui est d'un nombre de 179 ne produit pas cette bétalaclame à spectre étendu.

7. Comparaison des taux de résistances de *P. aeruginosa* au CHU T.O avec les valeurs nationales :

Tableau N° 28 : Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au CHU T.O avec les valeurs nationales.

Famille	Antibiotique	Taux de résistance au CHU T.O (%)	Moyenne	Taux de résistance nationaux (%)	Moyenne
Bétilactamines	Ticarcilline	14,7	26,31	41,62	24,91
	Ticarcilline + acide clavulanique	60,4		34,04	
	Pipéracilline	19,3		22,83	
	Imipénème	14,7		15,41	
	Céftazidime	15,9		15,4	
	Aztréonam	32,9		20,77	
Aminosides	Gentamycine	5,1	10,12	16,35	13,98
	Tobramycine	19,7		12,12	
	Amikacine	7,3		11,62	
	Nétilmicine	8,4		17,83	
Quinolones	Ciprofloxacine	11,3	11,75	14,27	14,27
	Lévofloxacine	12,2		/	
Autres	Fosfomycine	39,5	39,5	9,48	9,48
	Colistine	0	0	0	0

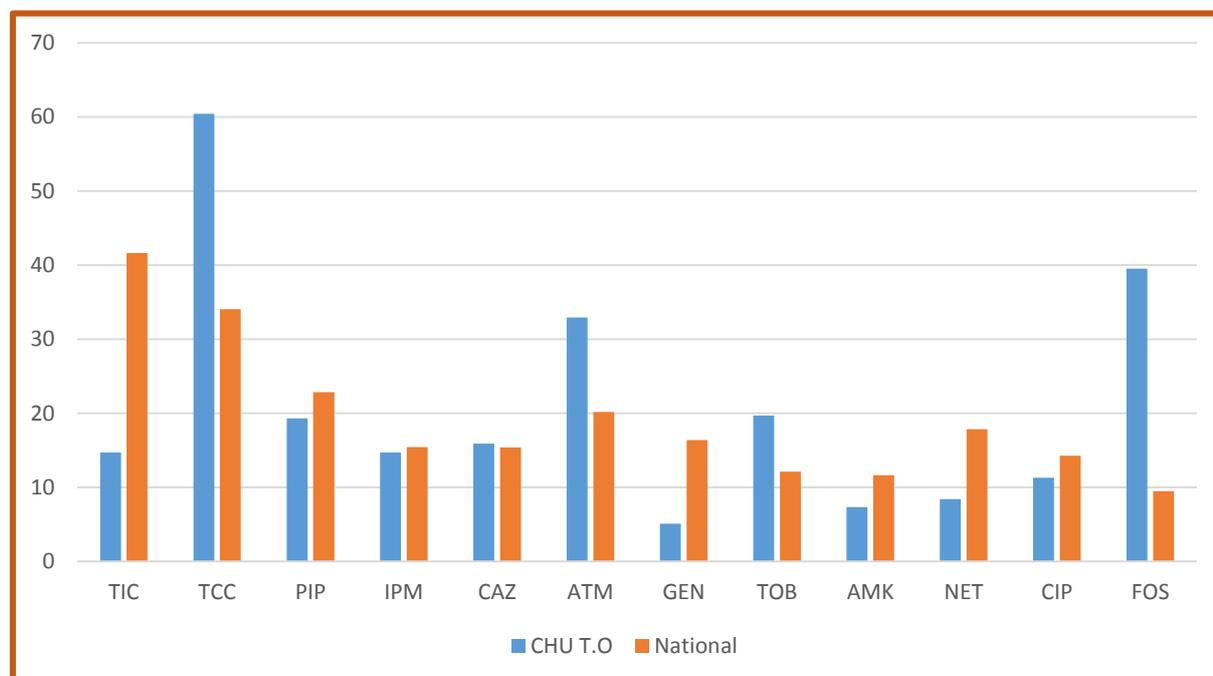


Figure N° 33 : Comparaison des taux de résistance de *P. aeruginosa* au CHU T.O avec les valeurs nationales.

Au sein de la famille des bêtalactamines les taux de résistance de *P. aeruginosa* au CHU T.O sont :

- Proches des valeurs nationales pour la céftazidime, l'imipénème et la pipéracilline ;
- Largement supérieurs aux valeurs nationales pour l'aztréonam et l'association ticarcilline + acide clavulanique ;
- Largement inférieurs aux valeurs nationales pour la ticarcilline.

Au sein de la famille des aminosides les taux de résistances de *P. aeruginosa* au CHU T.O sont :

- Inférieurs par rapport aux valeurs nationales pour la gentamicine, l'amikacine et la nétilmicine ;
- Supérieur à la valeur nationale pour la tobramycine ;
- En globale pour la famille des aminosides les taux de résistance sont faibles en comparaison avec les taux de résistance au niveau national.

Le taux de résistance à la ciprofloxacine au CHU T.O est inférieur à la valeur nationale.

Le taux de résistance à la fosfomycine au CHU T.O est largement supérieur à la moyenne nationale.

DISCUSSION

1. Difficultés rencontrées :

Lors de la réalisation de notre étude statistique on n'a pas eu beaucoup de difficultés, le personnel du laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi Ouzo était très coopératif, le logiciel WHONET 5.6 nous a facilité la tâche vu que les différentes données sur la résistance des bactéries aux antibiotiques dans cet établissement hospitalier y sont archivées, mais notre principale difficulté était le manque de données, c'est l'exemple des données sur la distribution du *P. aeruginosa* selon les services, en effet sur les 208 souches de *P. aeruginosa* isolées au CHU T.O pendant l'année 2015, il y avait 13 souches dont le service n'a pas été mentionné sur le résultat enregistré sur le logiciel WHONET 5.6.

2. Discussion :

Pendant les dernières cinq années, une diminution remarquable de la fréquence d'isolement du *P. aeruginosa* a été constatée au CHU T.O, en effet le nombre de souches isolées a baissé de 80% dans une période de cinq ans. Cela est dû aux mesures préventives prises au niveau des différents services du CHU T.O en vue de minimiser la dissémination des germes responsables d'infections nosocomiales.

Malgré cette baisse, le *P. aeruginosa* occupe toujours une position importante parmi les germes les plus rencontrés au laboratoire de microbiologie du CHU T.O, en effet, pendant l'année 2015, *P. aeruginosa* représenta 7,83% des germes les plus isolés. Ce qui justifie l'importance du suivi du développement de la fréquence d'isolement de ce germe ainsi que la surveillance de sa résistance aux antibiotiques.

Si on revient sur les données de cette étude, on trouve que les 3 services les plus touchés par le *P. aeruginosa* sont les urgences où on a isolé 68 souches de *P. aeruginosa* voire 32,7% du nombre total des souches isolées au CHU T.O pendant l'année 2015, suivi par le service d'hématologie par 19 souches soit 9,1% du nombre total des souches isolées, puis le service de la chirurgie infantile par 13 souches soit 7,2% du nombre total des souches isolées, ce qui confirme que le *P. aeruginosa* est un germe rencontré en milieu hospitalier surtout chez des patients traumatisés avec rupture des barrières de protection (urgence chirurgicales et médicales) ou dont l'immunité est fragilisée (hématologie).

Le *P. aeruginosa* est recherché dans différents types de prélèvements : les pus, les urines, les prélèvements bronchiques, le sang, le LCR ainsi que dans le liquide de dialyse, liquide gastrique et le liquide articulaire. Pendant l'année 2015, plus de la moitié des souches de *P. aeruginosa*

ont été isolées des pus soit 54,9% du nombre total des souches isolées et cela est expliqué par le fait que le *P. aeruginosa* est un germe nosocomial responsable surtout de surinfection des plaies chirurgicales et chez des patients qui sont fragilisés par l'acte chirurgical invasif, l'antibiothérapie ainsi que l'immunosuppression.

Vu que le *P. aeruginosa* est un germe naturellement très résistant à un grand nombre d'antibiotique, et comme il a été détaillé précédemment dans la revue bibliographique, seulement quelques antibiotiques sont efficaces et donc testés dans l'antibiogramme de ce germe au laboratoire de microbiologie du CHU T.O et cela selon les recommandations du réseau algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Six antibiotiques appartenant à la famille des bêtalactamines sont testés dans l'antibiogramme de *P. aeruginosa*, il s'agit de la pipéracilline, la ticarcilline, l'association ticarcilline + l'acide clavulanique, l'imipénème, la céftazidime et l'aztréonam.

La classe des bêtalactamines est la classe d'antibiotiques vis-à-vis de laquelle le *Pseudomonas aeruginosa* a développé plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015 par un taux de résistance de 26%, suivi par la classe des quinolones par un taux de résistance de 11% et enfin les aminosides qui est la classe vis-à-vis de laquelle le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance par un taux de résistance de 10%.

Au sein de la famille des bêtalactamines la TCC est l'antibiotique vis-à-vis duquel le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance avec un taux de 60,4% par rapport à l'ensemble des bêtalactamines testés, suivi respectivement par l'ATM (32,9%), la PIP (19,3%), la CAZ (15,9%), la TIC et l'IMP (14,7%) qui sont les deux ATB de cette famille vis-à-vis desquels le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015.

Si on fait une petite comparaison entre la résistance du *P. aeruginosa* à la TIC et celle à la TCC on va trouver une contradiction, en effet, la résistance à la TIC seule doit être, logiquement, supérieure à la résistance à l'association TCC vu que la TIC en association aura plus d'efficacité que si elle est utilisée seule, ce qui n'est pas le cas dans notre étude (taux de résistance à la TIC de 15% ; taux de résistance à la TCC de 60%). Cela peut être expliqué par le fait que pendant l'année 2015, il y a eu un non approvisionnement régulier de certains disques d'antibiotiques en particulier la TCC (ou TIM) ce qui a mis le laboratoire de microbiologie du CHU T.O dans la contrainte d'utiliser (tester) des disques de cet antibiotique qui étaient disponibles au laboratoire mais qui étaient d'une validité incertaine c'est-à-dire que les

diamètres d'inhibition obtenus étaient réduits donnant des résultats R (résistant) ou I (intermédiaire) ce qui n'était pas vraiment le cas. Cela peut être dû aussi à l'existence de BLSE, enzymes produites par *P. aeruginosa* qui inactivent la ticarcilline, qui sont résistants à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique) donc cette association sera inefficace ce qui peut expliquer aussi les résultats trouvés. Donc les données sur la résistance de *P. aeruginosa* à la TCC restent relatives.

Deux antibiotiques seulement appartenant à la famille des quinolones sont testés dans l'antibiogramme du *P. aeruginosa*, il s'agit de la ciprofloxacine et la lévofloxacine. La classe des quinolones occupe la deuxième position après celle des bêtalactamines par rapport aux classes vis-à-vis desquelles le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015, avec un taux de résistance de 11,75%. Les taux de résistance du *P. aeruginosa* aux deux ATB appartenant à la famille des quinolones sont très proches, en effet, le taux de résistance à la ciprofloxacine est de 11,3% et celui à la lévofloxacine est de 12,2%.

Quatre antibiotiques appartenant à la famille des aminosides sont testés pour le *P. aeruginosa*, il s'agit de l'amikacine, la gentamicine, la nétilmicine et la tobramycine. La famille des aminosides est la classe vis-à-vis de laquelle le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015 par un taux de résistance de 10%.

La plus grande résistance de *P. aeruginosa* au sein de la famille des aminosides a été développée vis-à-vis de la tobramycine avec un pourcentage de 19,7% par rapport à l'ensemble des aminosides testés pour ce germe, alors que les taux de résistance vis-à-vis des trois autres aminosides testés sont faibles avec des taux proches : AMK (8,4%), GEN (7,3%) et NET (5,1%).

Deux autres ATB sont testés pour le *P. aeruginosa*, il s'agit de la fosfomycine et la colistine (classés dans la partie I des résultats dans le groupe -autres-).

La fosfomycine occupe la deuxième position après la TCC en ce qui concerne les ATB vis-à-vis desquels le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance au CHU T.O pendant l'année 2015. En effet, le taux de résistance de *P. aeruginosa* à cet ATB est de l'ordre de 40% soit 17 souches sur un total de 48 souches testées pour cet ATB, alors que le taux de sensibilité est de l'ordre de 60% soit 26 souches sur le total des souches testées pour cet ATB. Or ces pourcentages sont calculés par rapport à 43 souches seulement de *P. aeruginosa* testées pour cette ATB sur l'ensemble des 208 souches isolées au CHU T.O pendant l'année 2015, vu la

rupture du stock des cartouches comprenant les disques de la fosfomycine, cela signifie que ces données sont relatives et qu'elles peuvent ne pas refléter vraiment l'état réel de la résistance du *P. aeruginosa* à cet antibiotique. Cette contrainte n'est pas limitée seulement à la fosfomycine mais pour la plupart des antibiotiques testés pour ce germe il y avait une rupture de stock pendant l'année 2015, mais à des degrés plus-au-moins différents. C'est pour cela, et pour chaque antibiotique on a bien précisé le nombre de souches testées, et c'est par rapport à ce nombre qu'on a calculé les taux de résistance. Pour pallier à ce problème et pour que les résultats de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques soient représentatifs, il faut instaurer un système de gestion de stock des cartouches d'antibiotiques pour ne pas tomber dans des situations de rupture.

La résistance de *P. aeruginosa* à la colistine au CHU T.O pendant l'année 2015 est nulle c'est à dire que ce germe est à 100% sensible à la colistine, il faut donc minimiser la prescription de cette ATB, et pour les cas qui le nécessitent son utilisation en association permet d'éviter l'apparition des souches résistantes.

En récapitulation, on peut dire qu'au CHU T.O le *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas très résistant aux antibiotiques, ses taux de résistance sont relativement bas, et sa fréquence d'isolement est en baisse, donc une surveillance de la prescription des antibiotiques avec l'application des mesures de prévention des infections nosocomiales permettent une amélioration par rapport à la situation actuelle. Toute stratégie de lutte contre la résistance aux antibiotiques et la dissémination des germes nosocomiaux débute par l'appréciation de la situation de départ, en basant sur les données de la surveillance systématique de la résistance des bactéries aux antibiotiques, c'est dans ce cadre que notre étude a été réalisée, elle constitue une source précieuse des données sur le comportement du *P. aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques au CHU T.O pendant l'année 2015. Une étude pareille doit être faite systématiquement à la fin de chaque année pour apprécier l'amélioration où la détérioration en comparaison avec les années précédentes et fixer les objectifs à atteindre et les mesures correctives à appliquer dans le future.

CONCLUSION

Conclusion

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une préoccupation mondiale et constitue un problème majeur de santé publique. En effet, nous assistons à une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif. La diffusion rapide des souches résistantes aux antibiotiques représente une menace thérapeutique et épidémiologique majeure surtout en milieu hospitalier et nécessite la mise en œuvre de procédures d'hygiène strictes et des études régulières de surveillance de cette résistance. *Pseudomonas aeruginosa* est l'un de ces germes nécessitant une surveillance à fin de minimiser sa dissémination au sein des structures hospitalières et donc diminuer les durées et les coûts d'hospitalisation. C'est dans ce cadre qu'on a réalisé notre étude statistique de la résistance du *P. aeruginosa* aux antibiotiques au CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou, qui vise à évaluer l'état de la résistance de ce germe aux antibiotiques ainsi que sa fréquence d'isolement au sein des différents services de cet établissement hospitalier. Une étude pareille rentre dans le cadre de la surveillance continue des germes nosocomiaux et dont les résultats permettent de prendre des mesures adéquates, selon le cas, afin de limiter la dissémination des souches multi-résistantes et de prévenir le développement de nouveaux mécanismes de résistance. Les résultats de notre étude sont très encourageants où on a constaté une baisse continue depuis l'année 2010 de la fréquence d'isolement de ce germe avec des taux de résistance relativement bas vis-à-vis à la plupart des antibiotiques testés pendant l'année 2015, mais cela ne signifie pas que les objectifs sont atteints, des études pareilles doivent être faites en continue et pour tous les germes à fin de bien maîtriser et diminuer la résistance des bactéries aux antibiotiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Léon L M ; Michel V. *Bactériologie médicale*. 2^{ème} édition. Paris : Flammarion édition ; 1990. p. 567-73.
2. Benabid R. Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa* [Thèse]. Reims : Université de Reims Champagne-Ardenne ; 2009.
3. Khalilzadeh P. Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III) ; 2009.
4. Patrick B ; Jean-Louis G ; Michel S. *Bactériologie ; les bactéries des infections humaines, de la biologie à la clinique*. 2^{ème} édition. Paris : Flammarion édition. 1989. p. 233-5.
5. Moustapha S L. Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du point G [thèse]. Bamako : Université de Bamako ; 2002.
6. Avril J M ; Dabernat H ; Monteil D H. *Bactériologie clinique*. 3^{ème} édition. Paris : Ellipses édition ; 2000. p. 602-3.
7. Hichem C. Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Grenoble : Université de Grenoble ; 2012.
8. Mesaros N, Nordmann P, Plésiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y et al. *Pseudomonas aeruginosa : Résistance Et Options Thérapeutiques À l'aube Du Deuxième Millénaire*. Bruxelles : Douvain édition ; 2007. p. 306.
9. Delarras C. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Paris : Lavoisier édition. 2007. p. 476.
10. Eyquem, A ; Montagnier L. *Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments*. Rome : PICCIN édition ; 2000. p. 238.
11. Tortora G J ; Berdell B F ; Christine L C. Introduction à la microbiologie. Montreal : ERPi édition ; 2003. p. 945.
12. Réseau algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 7^{ème} édition. 2014. Disponible sur : <http://www.santé.dz/aarn/index.htm>.
13. Singleton P. *Bactériologie pour la médecine, les biologes et les biotechnologies*. 2^{ème} édition. Paris : Dunod édition ; 2005. p. 45.
14. Figarella J ; Leyral G ; Terret M. *Microbiologie générale et appliqué*. Paris: DELEGRAVE édition ; 2007. p. 106-8.

15. Gaudy C ; Buxeraud J. *Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique*. Paris : ELSEVIER édition ; 2005. p. 23-4.
16. Perry J ; Staley J ; Lory S. *Microbiologie*. Etats Unis: Sinauer Associates édition. 2002. p. 163.
17. Talbert M ; Willoquet G ; Gervais R. *Pharmacoclinique*. Paris: Wolters Kluwer édition ; 2009. p. 641.
18. Archambaud M. Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB [Mémoire]. Toulouse : Université Paul Sabatier ; 2009.
19. Françoise V B ; Paul T. Pharmacologie et pharmacothérapie anti infectieuse [Thèse]. Bruxelles : université de Louvain ; 2008.
20. Imane S. Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien 2015 [Thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid ; 2015.
21. Pascal C. Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux [Thèse]. Besançon : Université de Franche-Comté ; 2010.
22. Asma L. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentaires au niveau du CHU du Tlemcen [Mémoire]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid ; 2012.
23. Nordman P ; Guibert M. Extended-spectrum bêta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 1990 Aug ; 42(2) : 128-31.
24. Weldhagen GF ; Poirel L ; Nordman P. Ambler class A Extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Aug 47(8) : 2385-92.
25. Li XZ ; Barre N ; Pool K. Influence of the Mex-AB-OprM multi-drug efflux system on expression of the Mex-CD-OprJ and Mex-EF-OprN multi-drug efflux system in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 2000 Dec ; 46(6) : 885-93.
26. Normak S. Beta-lactamase induction in gram-negative bacteria is intimately linked to peptidoglycan recycling. *Microb Drug Resist*. 1995 Summer ; 1(2) : 111-14.
27. Poole K. Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Feb ; 49(2) : 479-87.
28. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolones resistance. *Emerg Infect Dis*. 2001 Mar-Apr ; 7(2) : 337-41.

29. Anne D ; Jean Claude L ; Eric D ; Marc D. Cours de bactériologie, *Pseudomonas aeruginosa*. Disponible sur : <http://www.microbes-edu.org>.

30. Organisation mondiale de la santé. Résistance aux antimicrobiens. 2014. Disponible sur : <http://www.who.int/fr/>.

ANNEXES

Annexe 01 : les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

1. Les facteurs de virulence cellulaires

1.1. Les pili

Appelés aussi fimbriae, sont des organelles filamenteuses longues, présentes sur la surface de nombreuses bactéries pathogènes. Ce sont des appendices de surfaces, polaires, présents en plusieurs copies sur la surface de la bactérie. Ils ont un diamètre de 6 nm et peuvent atteindre plusieurs micromètres de longueur. La plupart des souches de *P. aeruginosa* produisent des pili, codés par le chromosome, visible sur plus de la moitié des cellules dans des conditions favorables (culture en bouillon non agitée et en phase stationnaire). Habituellement ces pili sont en position polaire, en nombre de 2 à 12 par pôle. Ce sont des filaments fins (5 à 6 nm de diamètre) et longs (2,5 µm), flexibles et élastiques. Les pili de *P. aeruginosa* sont impliqués dans des phénomènes d'adhérence à certaines cellules épithéliales de l'hôte [7].

1.2. Le flagelle

Le flagelle est une organelle complexe multi-protéique. Il s'agit de l'appendice le plus important dans la motilité des bactéries à Gram négatif. *P. aeruginosa* possède un seul flagelle monotriche polaire. Le flagelle est impliqué dans la pathogénie de la bactérie. Des mutants dépourvus de flagelle ont une virulence atténuée. Le flagelle est également nécessaire pour la formation du biofilm. Il intervient dans l'adhérence à la surface et la dissémination du biofilm par la suite [7].

1.3. Le biofilm

L'infection chronique se caractérise par la formation d'un biofilm bactérien, comme c'est le cas dans le poumon des patients atteints de mucoviscidose. En effet, 65 % des infections bactériennes chez l'homme impliquent des biofilms. Ces derniers peuvent se former au niveau de cathéters ou d'implants et attaquer des tissus comme les dents, les yeux, les poumons, les oreilles ou le tractus urogénital. Le biofilm se définit comme une population bactérienne adhérente à une surface et enrobée d'une matrice d'exopolysaccharide. La plupart des bactéries vivent aussi à l'état dit « sessile » fixées sur un support (biofilm) plutôt qu'à l'état « planctonique » (libres et isolées dans le milieu environnemental).

La structure du biofilm de *P. aeruginosa* est maintenue par une matrice EPS (pour extra-cellular polymeric substance matrix) qui joue un rôle dans les interactions entre les différentes cellules d'une même population, les interactions entre les différentes populations du biofilm et l'échange du matériel génétique [7].

1.4. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS est le constituant lipidique majeur situé à la face externe de la membrane. Il est constitué de trois parties : une partie hydrophobe, le lipide A, inséré dans la bicouche phospholipidique membranaire, un noyau oligosaccharidique et un polysaccharide antigène-O caractéristique de la bactérie. Le lipide A ou endotoxine est impliqué dans la stimulation excessive du système immunitaire et peut ainsi être à l'origine de chocs septiques. La région polysaccharidique ramifiée (antigène O) présente sur toute la surface de la bactérie, est en contact direct avec les tissus de l'hôte, jouant ainsi un rôle clé dans la réponse inflammatoire.

Son expression est variable (phénotypes « lisse » ou « rugueux ») permettant à certaines souches d'échapper à la phagocytose médiée par le complément [7].

1.5. L'alginate

Les alginates sont des exopolysaccharides visqueux et extracellulaires produites par *P. aeruginosa*. Ils sont composés de polymères répétés d'acide mannuronique et d'acide glucuronique et, donnent à la bactérie un aspect mucoïde.

Comme le LPS, les alginates sont impliqués dans l'adhésion de la bactérie à l'épithélium respiratoire. L'environnement des poumons de patients atteints de mucoviscidose et la réponse inflammatoire de l'hôte permettent d'augmenter la synthèse des alginates. Ceci est à l'origine de la conversion de la bactérie vers un phénotype mucoïde surproduisant des alginates. Cette surproduction d'alginates protège *P. aeruginosa* des antibiotiques. Elle permet également d'atténuer la réponse immunitaire en inhibant l'activation du complément, en réduisant le chimiotactisme des polynucléaires et en diminuant la phagocytose [7].

2. Les facteurs de virulence sécrétés

P. aeruginosa est capable de sécréter certains produits qui sont toxiques pour les cellules et les tissus de l'hôte. Ces facteurs de virulence peuvent agir à distance comme les hormones. Ils sont associés à l'infection aiguë et interviennent principalement dans la dissémination de la bactérie en perturbant les défenses de l'hôte [7].

2.1. L'exotoxine A

L'exotoxine A (ETA) est considérée comme la protéine la plus toxique sécrétée par *P. aeruginosa*. Elle est sécrétée dans l'espace extracellulaire sous forme d'une pro-toxine inactive. Elle est reconnue par les récepteurs CD91 et LRP (LDL related protein). Cette interaction provoque le clivage de la pro-toxine et une internalisation de la partie active. Cette dernière, à

activité ADP-ribosyl transférase, inhibe le facteur d'élongation-2 (EF-2) et, donc l'inhibition de la synthèse protéique induisant la mort cellulaire [7].

L'exotoxine A inhibe la libération de certaines cytokines pro-inflammatoires tel que le TNF- α , IL-10, IL-6 et l'IL-8. Ceci affaiblit la réponse immunitaire de l'hôte et aggrave l'état de l'infection. L'exotoxine A est cruciale pour la virulence de *P. aeruginosa*. Des mutants déficients de l'exotoxine A ont été 20 fois moins virulents par rapport à la souche sauvage. La production de l'exotoxine A dépend de la quantité du fer dans le milieu. Un maximum de production a été détecté dans un milieu pauvre en fer [7].

2.2. Les phospholipases

P. aeruginosa produit différentes phospholipases qui hydrolysent les liaisons phosphodiester des glycérophospholipides. Selon la spécificité de l'activité enzymatique, les phospholipases produites par *P. aeruginosa* sont de quatre types : la phospholipase A (PLA), B (PLB), C (PLC) et D (PLD).

Les phospholipases sont importantes pour la virulence de la bactérie. Elles déstabilisent la membrane des cellules de l'hôte et sont à l'origine de la mort cellulaire [7].

2.3. Les protéases

P. aeruginosa produit deux types de protéases : les métallo-protéases et les sérine-protéases.

2.3.1. Les métallo-protéases

2.3.1.1. L'élastase Las B (Pseudolysine)

Il s'agit d'une métallo-protéase à zinc. Cette protéase joue un rôle important dans la pathogénie de *P. aeruginosa*. En clivant l'élastine et le collagène, cette enzyme est à l'origine d'une destruction des jonctions entre les cellules épithéliales. Ceci augmente la perméabilité épithéliale et le recrutement des neutrophiles. Cette protéase fait augmenter la production de l'IL-8 et diminuer la réponse immunitaire innée, en rendant inactives, par clivage, des protéines du surfactant, SP-A et SP-D, et des récepteurs à protéases. L'élastase B est également capable d'inactiver d'autres protéines comme les IgA, les IgG et des composés du complément modulant ainsi la réponse immunitaire. Elle a la capacité de cliver la protéine uPAR2 (urokinase-type plasminogen activator receptor) qui est nécessaire à la migration et l'adhérence des cellules épithéliales et des leucocytes. Elle inhibe aussi la réparation des cellules épithéliales lésées en altérant la mobilité cellulaire [7].

2.3.1.2. L'élastase Las A (Staphylolysine)

C'est une protéase qui agit en synergie avec l'élastase B pour la dégradation de l'élastine. Elle représente un facteur de virulence important qui a la capacité de moduler les défenses de l'hôte [7].

2.3.1.3. La protéase alcaline (Aeruginolysine)

Elle lyse la fibrine et inhibe sa formation. Elle joue le rôle d'immuno-modulateur pendant l'infection. Elle dégrade des anticorps, les composants du complément C1q et C3, les cytokines et les chémokines [7].

2.3.2. Les sérine-protéases

2.3.2.1. La protéase IV (Arginyl-peptidase)

Elle dégrade les protéines A, D et B du surfactant, le fibrinogène, la plasmine, le plasminogène, l'épithélium cornéen, des IgG, le complément et des produits inflammatoires et contribue aussi au pouvoir pathogène de la bactérie [7].

2.3.2.2. La protéase Las D

Après clivage d'une protéine de 43 kDa, la CbpD (chitin-binding protein D), le fragment N-terminal de 23 kDa représente la protéase Las D. Cette protéase possède la capacité de lyser les bactéries *Staphylococcus aureus* permettant à *P. aeruginosa* de prédominer au niveau du poumon [7].

2.4. La leucocidine

La leucocidine est une protéine cytotoxique produite par la plupart des souches pathogènes de *P. aeruginosa*. Elle induit la lyse de plusieurs cellules impliquées dans les défenses de l'hôte comme les granulocytes et les lymphocytes [7].

2.5. Les rhamnolipides

Les rhamnolipides sont des bio-surfactants glycolipidiques résistants à la chaleur. Ils sont composés de rhamnose lié à des acides gras β -hydroxylés. *P. aeruginosa* produit 25 rhamnolipides qui sont différents soit par la longueur de la chaîne ou le degré de saturation de l'acide gras [7].

Le rôle des rhamnolipides dans la physiologie de la bactérie est encore mal connu. Néanmoins, ils sont des facteurs de virulence de *P. aeruginosa*. En effet, ils ont été détectés dans le crachat des patients atteints de mucoviscidose [7].

2.6. Les lectines

P. aeruginosa produit un grand nombre de glycoprotéines incluant deux lectines solubles : I (PA-IL) et II (PA-IIL). Elles sont principalement présentes dans le cytoplasme de la bactérie et la présence du calcium est essentielle pour qu'elles soient actives. Cependant, la lectine PA-IIL est également présente en grande quantité sur la membrane externe. Ces deux lectines représentent deux facteurs de virulences importants pour l'infection [7].

Annexe 02 : Les infections à *Pseudomonas aeruginosa*

II.1.2.1. Les infections cutanées

L'implantation de *P. aeruginosa* sur le revêtement cutané est favorisé par l'humidité (localisation aux zones périnéales, fréquence des infections en régions tropicales...) et par l'existence de lésions sous-jacentes (eczéma, dermatites, traumatisme, brûlures, ulcères de décubitus). Il s'agit donc de poly-dermites invasives accompagnées de nécrose tissulaire avec tendance hémorragique et production d'un exsudat purulent parfois bleu-vert. L'infection diffuse volontiers au tissu cellulaire sous-cutané et envahit les vaisseaux du derme. De telles infections cutanées sont souvent à l'origine de septicémies par dissémination hématogène des bactéries.

P. aeruginosa est une des causes majeures de mortalité chez les grands brûlés selon le mécanisme qui vient d'être cité.

D'autres infections cutanées de bon pronostic décrites chez des sujets non immunodéprimés sont liées aux conditions d'exposition aux bactéries : rashes érythémateux ou vésiculo-pustuleux chez les nageurs ou infections des pieds en zones tropicales humides.

Les lésions cutanées peuvent être aussi métastatiques. L'*ecthyma gangrenosum* en est l'expression clinique typique. Il s'agit de nodules indurés, ronds, petits, s'ulcérant rapidement, et retrouvés n'importe où sur la peau (et même les muqueuses). Ailleurs, il peut s'agir d'éruptions maculo-papuleuses ou vésiculaires, de cellulites ou d'abcès sous-cutanés parfois localisés aux extrémités [4].

II.1.2.2. Les infections urinaires

Elles surviennent à la suite d'interventions chirurgicales, de cathétérisme ou de manœuvres instrumentales. Avec une fréquence de près de 11% des infections urinaires nosocomiales, *P. aeruginosa* représente la troisième cause de telles infections après *E. coli* et les streptocoques. Les malades très souvent sont atteints de lithiases, obstructions ; malformations ou cancers et ont subi des antibiothérapies multiples. Il est aussi possible d'observer des infections urinaires à pyocyaniques chez des femmes jeunes chez qui une antibiothérapie itérative pour infections urinaires récidivantes a sélectionné des bacilles pyocyaniques dans la flore uréthro-vaginale. Ces infections peuvent se compliquer de pyélonéphrite et de septicémie [4].

II.1.2.3. Les infections pulmonaires

Elles sont exclusivement observées chez les sujets immuno-déficients ou atteints d'affections pulmonaires sous-jacentes. Il peut s'agir de broncho-pneumonies aiguës à la suite d'inhalation d'aérosol contaminés (couveuse en réanimation néo-natale), ou de sécrétions pharyngées riches

en bacilles pyocyaniques ou encore de contaminations directes par des manœuvres instrumentales. Un tableau similaire peut être observé au cours d'une septicémie chez des malades neutropéniques. Le début est brutal, avec fièvre, frissons, toux, dyspnée sévère, hypotension, cyanose, confusion mentale. A la radiographie, une bronchopneumonie bilatérale est observée, avec infiltrats nodulaires extensifs pendants à l'abcédation. L'évolution est souvent fulminante aboutissant à la mort en 3-4 jours par collapsus cardiovasculaire [4].

Chez les malades atteints de mucoviscidose (fibrose kystique du pancréas), l'infection par le bacille pyocyanique est d'évolution très différente. Il s'agit d'abord d'une colonisation de l'arbre trachéo-bronchique qui apparaît habituellement à partir de la deuxième année de la vie et qui est constante à partir de l'âge de cinq ans. L'infection est torpide, associée souvent à d'autres bactéries (*staphylococcus aureus*), et jouerait un rôle important dans la destruction progressive du tissu pulmonaire et dans la genèse des poussées aiguës. Cette suppuration chronique, souvent due à des souches très particulières de *P. aeruginosa* (souches muqueuses) entraîne bronchectasie, atélectasie et fibrose pulmonaire diffuse. Ces infections ne sont jamais à l'origine de septicémies pour une raison encore mal comprise [4].

II.1.2.4. Les infections oculaires

Les infections oculaires à bacille pyocyanique sont d'une particulière gravité. Elles peuvent débuter par une blépharo-conjonctivite. Mais cette infection superficielle peut s'étendre à la cornée, puis à l'ensemble du globe oculaire ; cette panophtalmie a été appelée à raison « fonte purulente de l'œil ». Il s'agit d'une complication redoutable des opérations ophtalmologiques. Mais elle peut aussi survenir sans cause locale apparente, chez les cancéreux par exemple. L'usage maintenant courant des lentilles de contact, éventuellement souillées par un liquide d'entretien contaminé, augmente le risque actuel de telles infections oculaires [4].

II.1.2.5. Les infections auriculaires

Il peut s'agir d'une otite externe observée chez les nageurs, de bon pronostic. Cette otite externe, chez les diabétiques ou les vieillards, peut évoluer de façon grave. L'infection, respectant le tympan, se propage par contiguïté vers la glande parotide et la mâchoire, et vers la mastoïde, entraînant une ostéomyélite de la base de crane et des paralysies des nerfs crâniens et une extension aux sinus. Ailleurs, des otites de l'oreille moyenne et des sinusites sont observées comme des surinfections de foyers infectieux chroniques. Ces otites sont torpides et de traitement difficile, atteignant la mastoïde et parfois à l'origine d'ostéomyélite ; des infections

extensives au cartilage de l'oreille ont été décrites enfin chez des sujets immunodéprimés ou les grands brûlés [4].

II.1.2.6. Les septicémies et endocardites

Les septicémies dues à *P. aeruginosa* étaient rares avant 1950 et touchaient alors surtout les nourrissons et les vieillards. Leur fréquence a augmenté depuis lors, jusqu'à représenter 10 à 20 % de l'ensemble des septicémies à bacilles à Gram négatif observée en milieu hospitalier. Les patients atteints sont en majorité des adultes, avec une nette prédominance pour le sexe masculin.

Ces septicémies peuvent apparaître de façon apparemment primitive (par exemple chez le prématuré), mais le plus souvent elles succèdent à une infection localisée à *P. aeruginosa* : cutanée (chez les brûlés), pulmonaire (chez les trachéotomisés) et surtout génito-urinaire. Plus de 80% des septicémies à bacille pyocyanique apparaissent à l'hôpital, et dans 50% des cas, après une intervention chirurgicale ou instrumentale. Dans deux tiers des cas, on peut noter un terrain propice : cancer (surtout leucémie), insuffisance respiratoire et maladie vasculaire. Deux tableaux évolutifs, de même fréquence, peuvent être distingués : soit un syndrome brutal de choc toxico-infectieux, mortel en quelques heures ou quelques jours, soit une forme moins brutale, avec localisations métastatiques pulmonaires ou cutanées. Les signes cliniques sont peu évocateurs d'une étiologie à *P. aeruginosa*, sauf dans les rares cas où on peut observer un ecthyma-gangrenosum, une CIVD (coagulation intra vasculaire disséminée), une jaunisse ou des hémorragies intestinales [4].

La mortalité dépasse 60%, le pronostic étant lié surtout à l'évolution de la maladie sous-jacente ou au foyer d'origine de la septicémie : plus de 80% de mortalité chez les leucémiques ou dans les septicémies d'origine pulmonaire, moins de 60% dans les septicémies suivant une infection urinaire. Les facteurs de mauvais pronostic sont la leucopénie (taux inférieur à 1000 /mm³), la baisse significative des IgG et des IgM et l'insuffisance rénale. Les endocardites sont secondaires à une bactériémie ou à une inoculation directe de bacille pyocyaniques par voie veineuse (héroïnomanes). L'endocardite peut atteindre les valves cardiaques saines ou lésées, ou les prothèses. L'infection entraîne une fièvre avec anomalies des bruits du cœur. Les végétations peuvent être objectivées par échocardiographie, et sont souvent localisées aux valves tricuspides chez les héroïnomanes. De nombreuses complications sont possibles : embolies septiques (poumon, rate, cerveau), anévrismes mycotiques [4].

II.1.2.7. Les infections du tractus digestif

Ces infections surviennent dans des conditions épidémiologiques diverses, non forcément reliées à un état d'immunodépression. Trois formes cliniques principales peuvent être observées :

- Une entérite aigue, de gravité variable, succédant à un traitement prolongé par voie orale, avec des antibiotiques à large spectre (qui sélectionne les bactéries résistantes comme *P. aeruginosa*), ou bien à un contact avec du matériel ou des aliments fortement contaminés par *P. aeruginosa* ; cette entérite se surtout chez les nouveau-nés, chez lesquels l'infection peut être mortelle.
- Une typhlite, provoquant une nécrose du caecum, qui peut s'étendre au colon. Cette infection localisée frappe surtout les patients neutropéniques et les enfants leucémiques ; elle peut conduire à pratiquer une exérèse du segment infecté et son pronostic reste plus grave.
- Une entérite d'origine hydrique, dite fièvre de Shangai. Cette entérite se manifeste chez de nombreux patients à la fois, qui peuvent présenter alors un tableau clinique de fièvre typhoïde. Elle est provoquée par ingestion d'eau potable, accidentellement contaminée par *P. aeruginosa*, et cette bactérie pullule alors dans les fesses des patients [1].

II.1.2.8. Les infections du système nerveux et les infections ostéo-articulaires

Il peut s'agir de méningites purulentes ou d'abcès du cerveau. Ces infections sont secondaires à une inoculation directe (ponction lombaire, traumatisme crânien, intervention chirurgicale), à une infection locale (ostéomyélite) ou encore à une dissémination hématogène (septicémie). Les infections ostéo-articulaires sont là encore dues souvent à des inoculations directes par piqûre (ostéo-arthrite, ostéo-chondrite du pied...), ou apparaissent comme des métastases (souvent localisées à la colonne vertébrale) ou des infections par contiguïté (otites...) [4].

Annexe 03: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* [12].

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
TIC	75 µg	≤ 15	16-23	≥ 24	≥ 128	32-64	≤ 16
TCC	75 /10 µg	≤ 15	16-23	≥ 24	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2
PIP	100 µg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16
CAZ	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
ATM	30 µg	≤ 15	16-21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
IPM	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2
AMK	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
GEN	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
NET	30 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
TOB	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
CIP	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
LVX	5 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
FOS	-	-	-	-			
COL	10 µg	≤ 10	-	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2

Annexe N° 04 : Recommandations de l’OMS pour la lutte contre la résistance des bactéries aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un problème complexe dû à de nombreux facteurs liés entre eux. À elles seules, les interventions uniques et isolées n’ont que peu d’impact. Une action coordonnée s’impose pour maintenir au minimum l’émergence et la propagation de cette résistance.

Chacun peut aider à lutter contre la résistance:

- En se lavant les mains et en évitant tout contact proche avec des malades pour prévenir la transmission des infections bactériennes et virales, comme la grippe et les rotavirus, ainsi qu’en utilisant des préservatifs pour la prévention des infections sexuellement transmissibles;
- En se faisant vacciner et en restant à jour de ses vaccinations;
- En utilisant des médicaments antimicrobiens seulement lorsqu’ils sont prescrits par un professionnel de santé diplômé;
- En terminant l’ensemble du schéma thérapeutique (ce qui peut signifier dans le cas des médicaments antiviraux un traitement à vie), même lorsqu’on se sent mieux;
- En ne partageant jamais les médicaments antimicrobiens avec d’autres personnes ou en n’utilisant jamais les restes de médicaments prescrits sur une ordonnance.

Les personnels de santé et les pharmaciens peuvent aider à lutter contre la résistance:

- En renforçant la lutte contre l’infection;
- En prescrivant et en délivrant des antibiotiques uniquement lorsqu’ils sont vraiment nécessaires;
- En prescrivant et en délivrant le bon antibiotique pour traiter la maladie.

Les décideurs politiques peuvent aider à lutter contre la résistance :

- En renforçant la surveillance de l’ampleur et des causes de la résistance;
- En renforçant les mesures de lutte contre l’infection et de prévention;
- En réglementant et en encourageant l’usage approprié des médicaments;
- En diffusant largement les informations sur les conséquences de la résistance aux antimicrobiens et en indiquant au grand public et aux professionnels de santé le rôle qu’ils peuvent jouer;

- en récompensant l'innovation et la mise au point de nouvelles options thérapeutiques et d'autres outils.

Les décideurs politiques, les chercheurs et l'industrie peuvent aider à lutter contre la résistance:

- En favorisant l'innovation et la recherche-développement de nouveaux vaccins, outils diagnostiques, options de traitement de l'infection et autres outils.

L'action de l'OMS

L'OMS oriente l'action face à la résistance aux antimicrobiens:

- En réunissant toutes les parties prenantes pour se mettre d'accord et prendre des mesures coordonnées;
- En renforçant la gestion et les plans nationaux pour lutter contre la résistance aux antimicrobiens;
- En produisant des orientations politiques et en fournissant une assistance technique aux États Membres;
- En encourageant activement l'innovation, la recherche et le développement.

Elle travaille déjà étroitement avec l'Organisation mondiale pour la Santé animale (OIE) et l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) afin de promouvoir les meilleures pratiques pour éviter l'émergence et la propagation de la résistance aux antimicrobiens, et notamment l'utilisation optimale des antibiotiques tant chez l'homme que chez l'animal.

L'OMS a rédigé un projet de plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, présenté à la Soixante Huitième Assemblée mondiale de la Santé en mai 2015 [30].

Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste responsable essentiellement d'infections nosocomiales. Cette espèce manifeste vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand qui aboutit à des problèmes thérapeutiques souvent aigus. Un ensemble de 208 souches de *P. aeruginosa* ont été isolées, entre janvier 2015 et décembre 2015, au niveau des divers services du centre hospitalo-universitaire Nedir Mohamed de Tizi Ouzou. 14 antibiotiques seulement sont testés pour le *Pseudomonas aeruginosa* au laboratoire de microbiologie du CHU T.O selon les recommandations du réseau national de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Parmi ces derniers six appartiennent à la famille des bêtalactamines qui est la classe vis-à-vis à laquelle le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance pendant l'année 2015 ; quatre appartiennent à la famille des aminosides ; deux quinolones ainsi que la fosfomycine et la colistine. Les taux de résistance de *P. aeruginosa* à ces antibiotiques varient entre 5% et 60% mais la plupart des taux sont inférieurs à 20% ce qui signifie que les souches de *P. aeruginosa* isolées à cet établissement sont presque des souches sauvages. Le suivi de la résistance des bactéries aux antibiotiques est très important pour prévenir la dissémination des souches résistantes en milieu hospitalier.

Mots clés : Résistance ; Antibiotique ; *Pseudomonas aeruginosa*

Summary

Pseudomonas aeruginosa is an opportunist pathogenic bacterium responsible primarily for infections nosocomiales. This species expresses to antibiotics an increasingly large power of adaptation which leads to often acute therapeutic problems. A set of 208 stocks of *P. aeruginosa* were insulated, between January 2015 and December 2015, on the level as of various services of the teaching hospital Nedir Mohamed de Tizi Ouzou. 14 antibiotics only are tested for *Pseudomonas aeruginosa* at the laboratory of microbiology of university hospital T.O according to the recommendations of the domestic network of the monitoring of the resistance of the bacteria to antibiotics. Among the latter six belong to the family of the bêtalactamines which is the class opposite to which the *P. aeruginosa* developed more resistance during the year 2015 ; four belong to the family of the aminosides ; two quinolones as well as the fosfomycine and the colistine. The rates of resistance of *P. aeruginosa* to these antibiotics vary between 5% and 60% but most rate are lower than 20% what means than the stocks of *P. aeruginosa* isolated with this establishment are almost wild stocks. The follow-up of the resistance of the bacteria to antibiotics is very important to prevent the dissemination of the resistant stocks in hospital medium.

Key words : Resistance ; Antibiotic ; *Pseudomonas aeruginosa*