



**Université Frères Mentouri Constantine 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**



## Mémoire

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Microbiologie**

**Spécialité: Biologie moléculaire des micro-organismes**

**Par : BENELMILI Sara**

**le : 29-9-2021**

**SAHRAOUI Rofeida Nour EL houda**

## Thème

**Etude du profil bactériologique et de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau du CHU de Constantine**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : Mme SAKHRI N.**

**MCA. UFM. Constantine 1.**

**Rapporteur : Mr BENLABED K.**

**Prof. CHU. Constantine.**

**Examineur : Mme BOUCHLOUKH W.**

**MCB. UFM. Constantine 1.**

**2020-2021**

## *Remerciements*

*El hamdoulillah, nous remercierons Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.*

*Nous remercierons Pr BENLABED K., chef de service au laboratoire de Microbiologie au CHU de Constantine, pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses conseils, son encouragement et ses compétences.*

*Notre remerciement s'adresse également à Mme SAKHRI N., Maitre de conférences "A" à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, de nous avoir accueillis dans son équipe et d'avoir accepté de présider le jury, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.*

*Nos vifs remerciements Mme BOUCHLOUKH W., Maitre de conférences "B" à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, d'avoir acceptés d'examiner ce modeste travail.*

*Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*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.*

*Je dédie ce travail*

*A*

*Mes très chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer, mon respect, mon amour éternel et ma considération pour tous leurs sacrifices, leur amour, leurs encouragements, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes frères, Abdelatif, Aymen*

*Et mes chères sœurs Achouak, Hamsa, Loudjaine*

*Pour leur appui et leur encouragement permanent.*

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

*A tous mes amis et camarades et mon binôme*

*A la personne qui était toujours là pour me soutenir et*

*M'encourager et assurer de me rendre heureuse, à mon cher mari*

*SERRAB Houssem*

*A toute personne qui, de près ou de loin, a contribué à la réalisation de notre travail.*

**SARA**

## *Dédicaces*

### ***A Dieu, LE MISECORDIEU***

*En toi, je remets toute mon existence. Tu es là au début de ce travail  
Tu as guidé mes pas selon ta volonté, rien ne me manquera et je ne crains rien.  
Accepte mon DIEU, DIEU de Mohamed, cet humble et modeste fruit de ta grande  
bonté et de ton amour.*

### **A mon père**

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie Et pour ses précieux conseils. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

### ***A ma mère***

*A ma chère maman, mon amie, ma confidente, ma force, qui m'encourage toujours dans ma vie et son soutien tout au long des années d'étude et sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente. Tu représentes beaucoup pour moi, Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne Longue vie et te protège pour moi.*

### **A ma jumelle racha, mes chères sœurs dhikra et lydia**

*Qui m'ont toujours encouragé et aidé dans tous mes recherches de mon parcours avec beaucoup de dévouement de tendresse et surtout d'amour et d'affection, qui ont toujours éclairé mon chemin, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et que je sois toujours la sœur dont vous serez fier.*

**A mon epoux Mossâab**

*Ton confiance, ton soutien, compréhension et ton encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer toujours vers l'avant.*

**A ma chère tante fatiha**

*Je vous remercie pour votre amour et votre soutien pour moi dans mon parcours universitaire. Vous avez toujours été notre modèle de réussite. Que Dieu vous bénisse pour nous.*

**A mère chère grande mère**

*Tout d'abord, j'espère que Dieu vous bénira de sa grande miséricorde et fera votre place au paradis .Je vous remercie de nous avoir élevés depuis l'enfance et pour nous aider dans les études, dans les difficultés de la vie. Merci pour votre sourire qui enlevait les soucis et vos prières qui m'ont amené terminer ce parcours.*

**A mes chères amies Kamilia, Nerdjes et mon binôme**

*Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.*

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

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

**A mes chères tantes, oncles, cousins, cousines et ma belle famille**

*Je remercie également de tout mon cœur tous les enseignants qui ont contribué à mon apprentissage je leur adresse mes sentiments respectueusement reconnaissant pour tout le savoir qu'ils m'ont prodigué.*

**A Monsieur ROUBAH, le vice doyen. Et Madame OUIDAD, le chef de département**

**A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur. Dans le regret de ne  
pouvoir tous citer**

**ROFEIDA NOUR EL HOUDA**

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction.....1

### Première partie: revue bibliographique

I.	Historique .....	3
II.	Habitat.....	3
III.	Taxonomie et nomenclature.....	3
IV.	Bactériologiques de <i>P. aeruginosa</i> .....	4
	1. Caractères phénotypiques.....	4
	1.1.Caractères morphologiques.....	4
	1.2.Caractères cultureux.....	4
	1.3.Caractères biochimiques.....	6
	1.4.Caractères antigéniques.....	7
	2. Caractères génotypiques.....	8
V.	Pathogénicité de <i>P. aeruginosa</i> .....	9
	1. Facteurs de pathogénicité .....	9
	1.1.Facteurs de virulence membranaires .....	9
	1.2.Facteurs de virulence extracellulaires.....	11
	2. Pouvoir pathogène.....	15
	3. Les infections à bacille pyocyanique.....	15
	3.1.Infections pulmonaires.....	15
	3.2.Bactériémies.....	15
	3.3.Infections urinaires.....	16
	3.4.Infections oto-rhino-laryngologiques .....	16
	3.5.Infections cutanées .....	16
	3.6.Infections oculaires.....	17
	3.7.Infections méningées.....	17

	3.8.Endocardites.....	17
	3.9.Infections ostéo-articulaires.....	17
	3.10. Infection digestives.....	18
VI.	Epidémiologie de <i>P. aeruginosa</i> .....	18
	1. Réservoirs et vecteurs .....	18
	2. Mode de transmission.....	18
	3. Facteurs de risques.....	19
	3.1.Facteurs favorisants lies à L'hôte.....	19
	3.2.Facteurs favorisants lies à la prise en charge .....	19
VII.	Résistance aux antibiotiques .....	19
	1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	20
	1.1.Résistance naturelle .....	20
	1.2.Résistance acquise.....	20
	1.3.Multi- résistance.....	21
	2. Mécanismes de résistance par famille d' antibiotiques .....	21
	2.1.Bêta-lactamines .....	21
	2.1.1. Résistance naturelle.....	21
	2.1.2. Résistance acquise.....	22
	a. Résistance enzymatique .....	22
	b. Résistance non enzymatique.....	24
	2.2.Aminosides.....	25
	a. Modification enzymatique.....	25
	b. Modification de la perméabilité membranaire.....	26
	c.Résistance par efflux actif .....	26
	d.Résistance par modification de la cible ribosomale.....	26
	e.Rôle de l'opéron oprH-phoP-phoQ dans la résistance aux aminosides.....	26
	2.3.Fluoroquinolones.....	27
	2.3.1. Par modification de la cible.....	27
	2.3.2. Par efflux actif.....	27
VIII.	Epidémiologie de la résistance .....	28
IX.	Diagnostic.....	30
	1. Prélèvement .....	30
	2. Examen macroscopique.....	30
	3. Examen microscopique.....	30



4. Culture.....	31
5. Identification .....	31
6. Antibiogramme.....	31

## Deuxième partie: Matériel et méthodes

I. Lieu et durée du stage.....	33
II. Type de l'étude.....	33
<b>III. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>33</b>
1. Techniques de prélèvement.....	33
2. Transport et fiche de renseignements.....	37
3. Techniques d'analyses.....	37

## Troisième partie : Résultats et discussion

I- Résultats .....	45
1. Répartition selon l'unité .....	45
2. Répartition selon le sexe.....	47
3. Répartition selon la nature du prélèvement .....	50
4. Répartition selon le service .....	53
5. Répartition de <i>P. aeruginosa</i> aux services en fonction de nature de prélèvements.....	59
6. Répartition selon les mois .....	65
7. Répartition des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> .....	66
8. Répartition de <i>P. aeruginosa</i> les germes associés et la nature de prélèvement.....	72
9. Résistance de <i>P. aeruginosa</i> aux ATB.....	77
II- Discussion.....	81
<b>Conclusion.....</b>	<b>86</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>88</b>

**Annexes**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxy-ribo-Nucléique. .

**ADP**: Adénosine Di-Phosphate.

**AMK** : Amikacine

**Amp C**: Cephalosporinase chromosomique de type C.

**ARN**: Acide Ribo-Nucléique.

**ATB**: Antibiotique

**ATCC**: *American Type Culture Collection*.

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

**C1G**: Céphalosporines de première Génération.

**C2G**: Céphalosporines de deuxième Génération.

**C3G**: Céphalosporines de troisième Génération.

**CAZ**: Céfotazidime.

**CDC** : *Centers for Disease Control and Prevention*

**CEF** : Cefepime

**CFS** : Cefsulodine

**CHUC**: Centre hospitalo-universitaire de Constantine.

**CIP**: Ciprofloxacine.

**COL**: Colistine.

***E. coli***: *Escherichia coli*.

**ECB** : Examen cytobactériologique.

**ECBU**: Examen cytobactériologique des urines.

**ECDC** : *European Centre for Disease Prevention and Control*

**EDTA:** Acide Ethylène Diamine Tétracyclique.

**Exo:** Exotoxine

**FOS :** Fosfomycine.

**FQs :** Fluoroquinolones.

**GEN:** Gentamicine.

**GN:** Gélose nutritive.

**Gyr :** Gyrase.

**IAS :** Infections Associées aux Soins

**IATC:** *International antigenic typing system.*

**IL:** Interleukines.

**IMP:** Imipénème.

**Las:** Elastase.

**LCR:** Liquide Céphalo-Rachidien.

**LPS:** Lipopolysaccharide

**MBLs :** Métallo- $\beta$ -lactamases.

**MDR :***MultiDrug Resistant.*

**min:** Minute.

**mm:** Millimètre.

**Non-MDR:** *non MultiDrug Resistant.*

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé.

**ONPG:** Ortonnitrophenyl- $\beta$ -galactoside..

**OXA:** Oxacilline.

***P. aeruginosa:*** *Pseudomonas aeruginosa.*

**PA I L:** *Pseudomonas aeruginosa* I lectin.

**PA II L:** *Pseudomonas aeruginosa* II lectin.

**PAO1:** génome de *Pseudomonas aeruginosa* 01.

**PDR :** *PanDrug Resistant* .

**PEN :** Pénicilline.

**PIP :** Pipéracilline..

**PLC :** phospholipase C.

**PLP :** Protéines de Liaison aux Pénicillines.

**PSE:** *Pseudomonas specific enzyme*.

**R :** Résistant.

**RNM-UM:** Réanimation- urgences médicale.

**TAZ :** Tazobactame.

**TIC:** Ticarcilline.

**TOB :** Tobramycine.

**VIH:** Humain immunodeficiency virus.

**XDR :** *Extensively Drug Resistant*.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Image tridimensionnelle de <i>P. aeruginosa</i> générée par ordinateur.....	4
<b>Figure 2.</b> Aspect des colonies « <b>Large</b> » de <i>P.aeruginosa</i> .....	5
<b>Figure 3.</b> Aspect des colonies « <b>Small</b> » <i>P.aeruginosa</i> .....	6
<b>Figure 4.</b> Aspect des colonies « <b>Muqueuses</b> » de <i>P.aeruginosa</i> .....	6
<b>Figure 5.</b> Génome de <i>P. aeruginosa</i> . ....	8
<b>Figure 6.</b> Structure du flagelle bactérien.....	9
<b>Figure 7.</b> Structure des pili de type IV.....	10
<b>Figure 8.</b> Structure du lipopolysaccharides (LPS) .....	11
<b>Figure 9.</b> Représentation générale des facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> .....	14
<b>Figure 10.</b> Mécanismes de résistance aux ATB. ....	21
<b>Figure11.</b> Fréquence des souches isolées selon l'unité.....	45
<b>Figure12.</b> Fréquence des souches isolées selon l'unité (2020)....	46
<b>Figure13.</b> Fréquence des souches isolées selon l'unité (2021) .....	47
<b>Figure14.</b> Fréquence des souches isolées selon le sexe .....	48
<b>Figure15.</b> Fréquence des souches isolées selon le sexe(2020) .....	49
<b>Figure16.</b> Fréquence des souches isolées selon le sexe(2021) .....	49
<b>Figure17.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement.....	50
<b>Figure18.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement (2020).	52
<b>Figure19.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement (2021).	53
<b>Figure20.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services.....	55
<b>Figure21.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services (2020) .....	57
<b>Figure22.</b> Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services (2021) .....	59

<b>Figure 23.</b> Répartition mensuelle des souches isolées (2020-2021) .....	<b>66</b>
<b>Figure 24.</b> Nombre des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> .....	<b>68</b>
<b>Figure 25.</b> Nombre des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> (2020) .....	<b>70</b>
<b>Figure 26.</b> Nombre des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> (2021) .....	<b>71</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Principales bêta-lactamines produit par <i>P. aeruginosa</i> .....	<b>23</b>
<b>Tableau 2.</b> Répartition selon les unités.....	<b>45</b>
<b>Tableau 3.</b> Répartition selon les unités (2020) .....	<b>46</b>
<b>Tableau 4.</b> Répartition selon les unités(2021) .....	<b>47</b>
<b>Tableau5.</b> Répartition selon le sexe.....	<b>48</b>
<b>Tableau6.</b> Répartition selon le sexe(2020) .....	<b>48</b>
<b>Tableau7.</b> Répartition selon le sexe (2021) .....	<b>49</b>
<b>Tableau8.</b> Répartition selon la nature du prélèvement.....	<b>50</b>
<b>Tableau9.</b> Répartition selon la nature du prélèvement(2020) .....	<b>51</b>
<b>Tableau10.</b> Répartition selon la nature du prélèvement (2021) .....	<b>52</b>
<b>Tableau11.</b> Matériel utilises dans les prélèvements .....	<b>53</b>
<b>Tableau12.</b> Répartition selon le service.....	<b>54</b>
<b>Tableau13.</b> Répartition selon le service (2020) .....	<b>56</b>
<b>Tableau 14.</b> Répartition selon le service (2021) .....	<b>58</b>
<b>Tableau15.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> selon les services et la nature de prélèvement(2020) .....	<b>60</b>
<b>Tableau16.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> selon les services et la nature de prélèvement(2021) .....	<b>62</b>
<b>Tableau17.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> selon les services et la nature de prélèvement.....	<b>64</b>
<b>Tableau18.</b> Répartition de souches positives de <i>P.aeruginosa</i> en fonction de mois (2020) .....	<b>65</b>
<b>Tableau19.</b> Répartition de souches positives de <i>P.aeruginosa</i> en fonction de mois (2021) .....	<b>66</b>
<b>Tableau 20.</b> Répartition des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> .....	<b>67</b>
<b>Tableau 21.</b> Répartition des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> (2020) .....	<b>69</b>
<b>Tableau 22.</b> Répartition des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> (2021) .....	<b>71</b>

<b>Tableau23.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> les germes associés et la nature de prélèvement.....	<b>73</b>
<b>Tableau24.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> les germes associés et la nature de prélèvement (2020)...	<b>75</b>
<b>Tableau25.</b> Répartition des germes associés à <i>P. aeruginosa</i> et la nature de prélèvement (2021) ...	<b>77</b>
<b>Tableau26.</b> Taux de résistances des 418 souches.....	<b>78</b>
<b>Tableau27.</b> Taux de résistances des 234 souches (2020) .....	<b>79</b>
<b>Tableau 28.</b> Taux de résistances des 184 souches (2021) .....	<b>80</b>



# **Introduction**

# Introduction

---

Depuis quelques décennies, *Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est reconnu comme agent pathogène hospitalier et peut causer de réels problèmes thérapeutiques. Il constitue l'espèce type du genre *Pseudomonas*, et représente à lui seul 90% des bactéries de ce groupe isolées en clinique humaine [1].

Cette espèce est omniprésente dans l'environnement, pouvant se développer chez l'homme, les animaux, les végétaux ainsi que dans divers environnements, notamment les milieux humides. L'hôpital constitue ainsi une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux et les siphons des éviers [2, 3].

Avec un grand génome donnant une grande flexibilité génétique et un large arsenal de facteurs de virulence, cette bactérie est responsable de diverses infections nosocomiales : des infections urinaires, des infections cutanées secondaires à des brûlures, et beaucoup d'autres infections en milieu hospitalier [4,5].

*P.aeruginosa* possède particulièrement une résistance naturelle à plusieurs classes d'ATB. Ce qui rend ce pathogène encore plus préoccupant, c'est l'augmentation de la prévalence des isolats multi- résistants par rapport au nombre limité de molécules anti *Pseudomonas* existantes [6].

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 Master, et qui consiste à étudier l'importance des infections liées aux soins à *Pseudomonas aeruginosa* et sa résistance aux antibiotiques chez les patients hospitalisés dans les différents services du CHU Constantine.

**Premier partie :**  
**Revue bibliographique**

## I-Historique

*P. aeruginosa* est une bactérie découverte dans des infections humaines en 1862 par Luke. Elle a ensuite été isolée pour la première fois par Carl Gessard en 1882, qui lui a donné le nom de bacille pyocyanique du fait de sa morphologie (bâtonnets) et de sa capacité à produire des pigments de couleur bleu-verte (la pyocyanine et la pyoverdine) [7,8].

## II -Habitat

*P. aeruginosa* est une bactérie hydrotellurique ubiquitaire, parfois commensale du tube digestif de l'homme, saprophyte, répandue dans les zones humides : le sol, les lacs, les rivières, l'eau polluée, les piscines et les jacuzzis. Elle est largement répandue dans les poussières et les aliments crus (particulièrement les légumes : tomates, carottes, ...) [3, 9].

L'hôpital constitue ainsi une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux et les siphons des éviers [10].

## III-Taxonomie et nomenclature

Étymologiquement, le mot issu du grec *pseudo* (=simili ou imitation) et *monas* (=unité) désignait les germes du début de la microbiologie.

Le mot *aeruginosa*, qui signifie vert de gris en latin, fait référence au pigment produit par la bactérie et qui donne à la colonie sa couleur caractéristique. *P. aeruginosa* est l'espèce type des *Pseudomonas* [11].

*Pseudomonas aeruginosa* appartient à [12] :

- Règne : *Bacteria*
- Embranchement : *Prokaryota*
- Division : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Pseudomonadales*
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *aeruginosa*

La classification de *P. aeruginosa* (comme toutes les bactéries) a d'abord été fondée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (morphologiques, biochimiques); puis sur leur caractères génotypiques (l'étude du génome) [13].

### IV-Bactériologie de *Pseudomonas aeruginosa*

#### 1- Caractères phénotypiques

##### 1-1- Caractères morphologiques

*P. aeruginosa* est un bacille fin sous forme de bâtonnet de 1 à 5  $\mu\text{m}$  de longueur et 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de largeur. C'est une bactérie à Gram négatif, non sporulée, strictement aérobie, généralement non capsulée mais parfois entourée d'une pseudo-capsule appelée **slime** qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie, elle est très mobile grâce à la présence de flagelle polaire généralement unique (monotriche) (**Figure 1**) [8,14].



**Figure 1.** Image tridimensionnelle de *P. aeruginosa* générée par ordinateur (3D) [10].

##### 1-2- Caractères cultureux

###### 1-2-1- Milieux

*P. aeruginosa* est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur tous les milieux pour bacilles à Gram négatif. Il peut être isolé sur des milieux sélectifs comme le milieu de Drigalski, Mac conkey, Hektoen, Salmonella Shigella, trypticase soja. Des milieux sélectifs à base de **Cétrimide** que l'on peut additionner d'ATB (acide nalidixique) sont proposés pour la recherche dans des produits très contaminés ou dans les eaux (hydrologie), et des milieux ordinaires non sélectifs comme la gélose nutritive [2, 16, 17, 18].

Les milieux King A et King B qui favorisent la production des pigments du *P. aeruginosa* (pyocyanine sur milieu king A et pyoverdine sur le milieu King B) sont aussi utilisés [19].

### 1-2-2- Température

Le bacille pyocyanique est une bactérie à besoins très limités, elle pousse entre 30 et 37 °C en 24 heures. Elle est mésophile et capable de se développer à des températures allant de +4°C à +45°C [20,21].

### 1-2-3- Atmosphère

*P. aeruginosa* peut être cultivé facilement sur tous les milieux en aérobiose mais il est capable d'utiliser les nitrates en conditions anaérobies [22].

### 1-2-4- Odeur

Il dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigments [2,16].

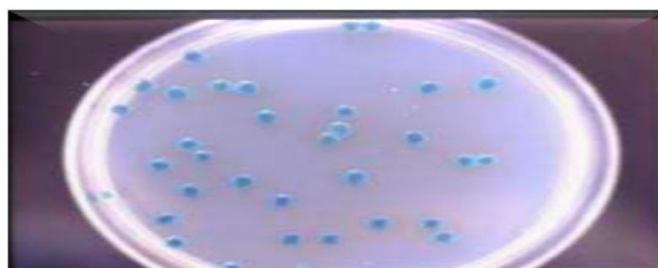
### 1-2-5- PH

Toutes les espèces de ce genre supportent de faibles variations de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2. Elles ne peuvent croître à pH inférieur à 4,5 [23].

### 1-2-6- Aspect des colonies

Il est particulier à cette espèce. Trois types de colonies peuvent être observées simultanément ou de manière isolée:

-**Colonies la « Large »** : isolées, grandes, avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier. Elles sont caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métallique, irisé lors de la culture en nappe de la bactérie. Ce phénomène est lié à l'action des enzymes protéolytiques bactériennes (**Figure 2**) [14].



**Figure 2.** Aspect des colonies « Large » de *P.aeruginosa* [14].

- Colonies *S* « **Small** » : petites, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier (**Figure 3**) [14].



**Figure 3.** Aspect des colonies « **Small** » *P.aeruginosa* [14].

- Colonies *M* « **Muqueuses** » : bombées, opaques, visqueuses, parfois coulantes. Ces colonies sont retrouvées presque spécifiquement dans des infections chroniques, urinaires ou surtout pulmonaires. La bactérie produit alors un polysaccharide extracellulaire (l'acide alginique) qui est différent du « slime » (**Figure 4**) [14].



**Figure 4.** Aspect des colonies « **Muqueuses** » de *P.aeruginosa* [14].

### 1-3- Caractères biochimiques:

#### 1-3-1- Métabolisme

*P. aeruginosa* est caractérisé par un métabolisme oxydatif. Il a une capacité de dégrader des composés complexes, tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon et la cellulose [21, 23,24].

Il réduit généralement les nitrates en nitrites (réduction des nitrates en nitrites pouvant aller jusqu'au stade d'azote gazeux), et il possède une arginine-dihydrolase, une lécithine (qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide), il produit de l'ammoniac à partir de la dégradation de l'acétamide [25].

Il est positif pour les tests : catalase, arginine d'hydrolase (ADH), citrate de Simmons, gélatinasse, et des réponses négatives pour les tests : Lysines decarboxylase (LDC), Ornithine

decarboxylase (ODC), indole, bêta-galactosidase, quelques souches hydrolysent l'O-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside(ONPG) au moyen d'une enzyme différente de la bêta-galactosidase [26].

### 1-3-2- Production de pigments (sidérophores)

Ce sont des molécules contenant du fer, synthétisées à partir des cellules eucaryotes de l'hôte, et se comportant comme de véritables chélateurs du fer entrant en compétition avec la transferrine (dans le sang) et la lactoferrine (dans les voies respiratoires).

Elles ont aussi une action pro- inflammatoire, et interfèrent avec les défenses antioxydantes en inhibant la catalase. Elles sont produites dans le milieu extérieur puis récupérées sous forme complexée [14].

*P. aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils peuvent être mis en évidence dans le milieu de King B et King A :

- a- **La pyocyanine** : pigment bleu sécrété par la bactérie (composé fortement polaire, de nature phénazinique), soluble dans l'eau et le chloroforme. Il a un rôle dans la virulence de *P. aeruginosa*
- b- **La pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent responsable en partie de la couleur caractéristique des colonies de *P. aeruginosa* , soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme. Il a un rôle de régulateur dans la sécrétion de certains facteurs de virulence (exotoxine A, protéases) de *P. aeruginosa* ainsi que sa propre sécrétion.
- c- **D'autres pigments hydrosolubles** : peuvent être produits parfois de manière transitoire : la pyomélanine brune et la pyorubine rouge [2, 16, 25, 27].  
Cette espèce est la seule à les produire [28].

### 1-4- Caractères antigéniques

Il existe, chez *P. aeruginosa*, **un antigène flagellaire H** thermolabile et **un antigène somatique O** thermostable qui est responsable d'une antigénicité de type (sérotypage des souches). La spécificité de cet antigène O est supportée par plusieurs polysaccharides correspondant aux chaînes latérales du lipopolysaccharide (LPS), dont la longueur et la composition sont variables [29].

Le sérotypage des souches, grâce à des antisérums dirigés contre ces antigènes, permet de distinguer 20 sérotypes majeurs différents selon la classification de l'IATS (*International Antigenic Typing System*), reflétant la grande diversité de structure de l'antigène O au sein d'une même espèce [29,30].



Certaines souches de *P. aeruginosa*, notamment des souches cliniques comme les souches M, en particulier celles qui proviennent de patients atteints de mucoviscidose, ne sont pas O-sérotypable car elles ne produisent pas l'antigène O, donc elles peuvent être difficiles à typer du fait d'un déficit plus ou moins prononcé en chaînes latérales du LPS de ces souches.

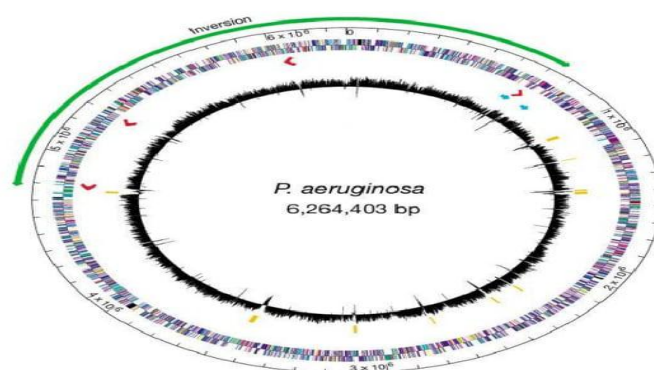
La perte de la capacité à produire l'antigène O est un mécanisme d'adaptation de la bactérie lui permettant d'échapper au système immunitaire de l'hôte ou à l'action de certains antimicrobiens. Ces bactéries sont dites « type R » pour « *Rough colony* » contrairement aux bactéries de « type S » pour « *Smooth colony* » produisant l'antigène O [30].

### 2- Caractères génotypiques

Le génome de *P. aeruginosa* a été séquencé en 2000 chez la souche de référence PAO1. C'est l'un des plus grands génomes bactériens séquencés, avec 6,3 millions de paires de bases codant pour 5570 cadres de lectures [31].

Cette bactérie possède un nombre important de gènes impliqués dans des systèmes de régulations et des fonctions métaboliques, cette diversité lui confère la capacité d'utiliser un grand nombre de composés organiques et de se développer ainsi dans de nombreuses niches écologiques même pauvres en nutriments et aussi pour la résistance intrinsèque aux ATB [26].

*P. aeruginosa* possède de nombreux plasmides transférables par conjugaison ou par transduction et la plupart des souches sont multilyso-gènes ; ceci explique les nombreuses variations génétiques qu'on observe dans l'espèce avec pour conséquence, en particulier, la fréquence des souches multirésistantes aux ATB [32] (**Figure 5**).



**Figure 5.** Génome de *P. aeruginosa* [31].

## V-Pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa*

### 1- Facteurs de pathogénicité

La pathogénie de *P. aeruginosa* est attribuée à la production d'un vaste arsenal de facteurs de virulence membranaires ou extracellulaires agissant à différents niveaux au cours de l'infection, lui permettant de survivre aussi chez des hôtes que dans l'environnement. Ces facteurs sont impliqués dans les différents types du processus d'infection et permettent à *P.aeruginosa* de coloniser son hôte.

On distingue des facteurs de virulence impliqués dans l'infection aigue et ceux associés à l'infection chronique :

#### 1-1- Les facteurs de virulence membranaires (structuraux)

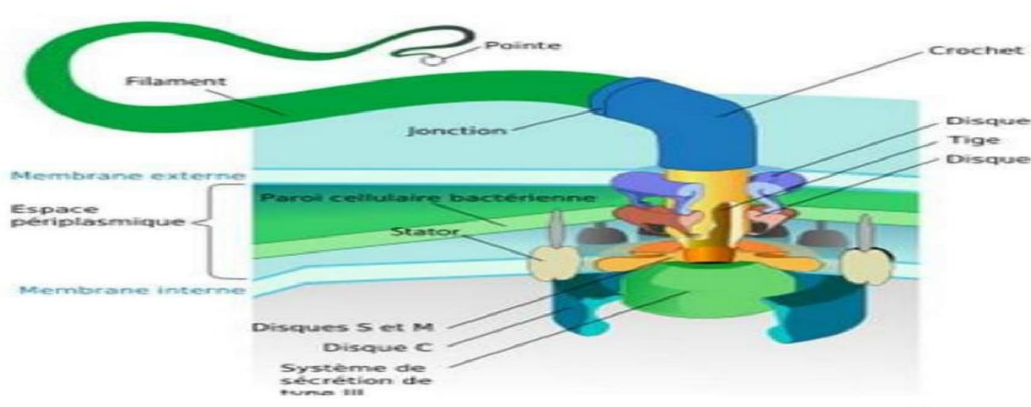
##### 1-1-1- Flagelle

*P. aeruginosa* possède un seul flagelle monotriche polaire qui est responsable de la mobilité de type "swimming" mais qui intervient également dans la mobilité de type "swarming" ( **Figure 6**).

L'implication du flagelle dans la pathogénicité de nombreuses bactéries pathogènes, comme *P. aeruginosa*, a déjà été bien établi.

Par l'intermédiaire d'un composant commun de membrane asialo-GM1, le flagelle participe à la virulence en induisant une réponse inflammatoire par interaction avec les récepteurs *Toll*, TR5 et TR2, ce qui a pour conséquence la production d'IL-8, d'IL-6 et de mucine.

Il joue aussi un rôle important dans les stades précoces du développement du biofilm bactérien [33].



**Figure 6.** Structure du flagelle bactérien [34].

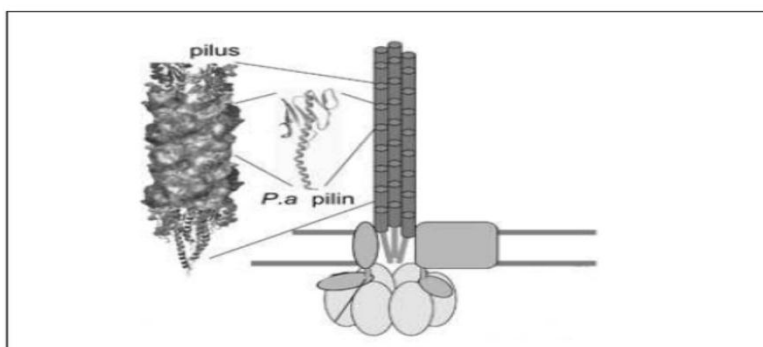
### 1-1-2- Les pili de type IV et Systèmes Cup

Les pili de type IV sont les principales adhésines de *P. aeruginosa*. Ils sont responsables de l'adhésion aux cellules épithéliales de l'hôte. Ils sont impliqués dans les mobilités de type "twitching" et de type "swarming".

De plus, ces structures interagissent *in vitro* avec la région glycosylée des glycosphingolipides asialo GM1 et asialo GM2, située à la surface des cellules épithéliales pulmonaires. Leur expression est soumise au contrôle d'un système de régulation de la transcription à deux composants *pilS* et *pili* [33].

Ils sont importants pour la transformation naturelle et l'initiation des infections par bactériophages dont les pili jouent le rôle de récepteur [25].

Trois systèmes Cup (CupA, CupB et CupC) ont été identifiés chez *P.aeruginosa*. Ce sont des facteurs d'attachement essentiels dans l'adhérence aux surfaces et la formation du biofilm (**Figure 7**) [35].



**Figure 7.** Structure des pili de type IV [8].

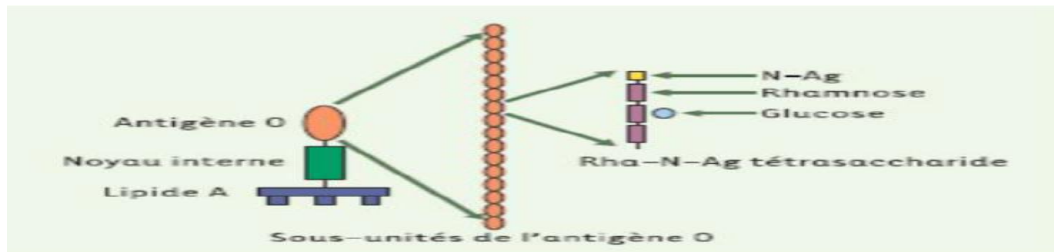
### 1-1-3- Lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS, localisé dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif est, d'une part, connu pour son rôle protecteur contre la lyse provoquée par le sérum et, d'autre part, pour son activité endotoxique. Il est également impliqué dans la stimulation de la réponse inflammatoire et dans les interactions avec les tissus hôtes [33].

La molécule de LPS peut être divisée en trois parties (**Figure 8**):

- a- le lipide A :** aussi appelé endotoxine. est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort.
- b- le cœur oligosaccharidique :** hydrophile constitué de chaînes polysaccharidiques, il se subdivise en un cœur interne et un autre externe.

- c- **l'antigène O** : est une région polysaccharidique variable débordant de la membrane externe, sur laquelle sont basés le sérotypage et l'identification antigénique de *P. aeruginosa* [25,33].



**Figure 8.** Structure du lipopolysaccharides (LPS) [25]

### 1-1-4- Alginate

L'alginate est un exopolysaccharide mucoïde, composé de polymères de l'acide mannuronique associé avec l'acide glucuronique.

*P.aeruginosa* produit l'alginate pour s'adapter dans certaines situations environnementales inappropriées au développement bactérien. C'est le cas des infections pulmonaires chroniques des patients atteints de mucoviscidose.

La production d'alginate par ces souches permet la formation d'un biofilm qui favorise l'adhésion aux cellules épithéliales et protège la bactérie de la phagocytose, des anticorps, de l'action des ATB et des désinfectants [25].

### 1-2- Les facteurs de virulence extracellulaires (sécrétés)

Au cours de la phase exponentielle, *P. aeruginosa* est capable de produire un grand nombre des facteurs de virulence pour provoquer une lésion tissulaire [36].

#### 1-2-1 hémolysines

Deux hémolysines sont produites :

- a- **Les phospholipases C** : les phospholipases sont des enzymes extracellulaires thermolabiles d'environ 80 kDa, contenant des ions zinc essentiels à l'activité enzymatique. Sécrétées par le système de sécrétion de type II, elles présentent différentes spécificités de substrats et ont

particulièrement pour cible la partie lipidique de la membrane des cellules eucaryotes. L'action des phospholipases est facilitée par les rhamnolipides bactériens.

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.

Trois phospholipases C (PLC) de spécificité de substrats différents ont été identifiées chez *P. aeruginosa*.

**b- Les rhamnolipides:** ils émulsifient les phospholipides des parois membranaires [14, 25].

### 1-2-2- Toxines

Les toxines qui existent dans de nombreuses espèces bactériennes, interfèrent avec la synthèse protéique des cellules eucaryotes. Il existe 3 types chez *P. aeruginosa* :

**a- La cytotoxine :** elle détruit la membrane des leucocytes en entraînant la formation de pores et la fuite de granules et d'enzymes lysosomales.

**b- L'exotoxine A:** elle a des similitudes de structure et d'action avec la toxine diphtérique. Elle interfère avec la synthèse protéique, inactive le facteur d'élongation des chaînes peptidiques des eucaryotes, ce qui aboutit à la lyse cellulaire avec lésions tissulaires et à l'invasion bactérienne. Elle participe au caractère systémique de l'infection.

**c- L'exotoxine S:** c'est une enzyme qui dépolarise les filaments d'actine et de vimentine du cytosquelette dans les macrophages. Elle a également une action sur l'invasion tissulaire et la dissémination bactérienne. [14, 37, 17].

### 1-2-3- Protéases

Elles sont surtout efficaces dans les premières étapes de l'infection, en créant les lésions tissulaires permettant l'implantation, mais aussi en inactivant des protéines de défense de l'hôte.

Elles comprennent :

**a- L'élastase B (Las B) :** elle détruit les jonctions entre les cellules épithéliales et les composants des lames basales des épithéliums (notamment pulmonaires et cutanées), dégrade la fibrine, stimule la sécrétion muqueuse et inactive l'inhibiteur  $\alpha 1$  des protéases des polynucléaires. Elle dégrade aussi les anticorps (formation d'anticorps bloquants non fonctionnels), les protéines du complément, et certaines cytokines

- b- L'élastase A (Las A) :** elle détruit l'élastine et la rend plus accessible à l'action d'autres protéases comme Las B, protéase alcaline, et l'élastase de neutrophile.
- c- La protéase alcaline :** c'est une protéase qui dégrade la fibrine. Elle est sécrétée par le système de sécrétion de type I. Son rôle pathogène est documenté dans les infections cornéennes comme toutes les protéases produites chez *P. aeruginosa*. Elle participe aussi dans la physiopathologie des pneumopathies aiguës [14,33,38].

### 1-2-4- Le système de sécrétion de type III et ses toxines

Il permet à la bactérie d'injecter directement ses toxines dans le cytoplasme des cellules cibles.

- a- L'exoenzyme S :** c'est la cytotoxine la mieux décrite actuellement. Le rôle pathogène de l'exoenzyme S est principalement lié à l'activité de l'ADP ribosyltransférase qui entraîne une perturbation de l'organisation normale du cytosquelette. Il s'agit d'une enzyme bifonctionnelle (activité GTPase et ADP ribosyltransférase). Elle inhibe ainsi la phagocytose, en empêchant l'internalisation du bacille par les cellules épithéliales et les macrophages. Elle induit aussi l'apoptose de ces macrophages par interaction avec la voie des récepteurs de mort cellulaire. Enfin, elle joue un rôle dans l'inflammation pulmonaire par production de cytokines pro-inflammatoires et par prolifération des lymphocytes.
- b- L'exoenzyme T :** elle est également bifonctionnelle et partage des homologies avec l'exoenzyme S. Cependant, son activité ADP ribosyltransférase est bien moindre (par rapport à celle de l'ExoS), elle est donc considérée comme une cytotoxine mineure.
- c- L'exoenzyme U :** elle est plus cytotoxique que l'exoenzyme S. Elle clive les acides gras membranaires et est associée à la destruction du tissu pulmonaire, avec des pneumopathies sévères, voire des sepsis. L'expression de l'ExoU accroît ainsi la virulence du bacille pyocyanique dans un modèle de pneumopathie aiguë chez la souris.
- d- L'exoenzyme Y :** c'est une adénylate cyclase qui induit une accumulation d'AMPc au niveau intracellulaire, avec pour conséquence un changement de morphologie des cellules qui s'arrondissent. Cela entraîne la formation de trous intercellulaires et détériore l'endothélium pulmonaire [17, 35].

## 1-2-5- Lectines

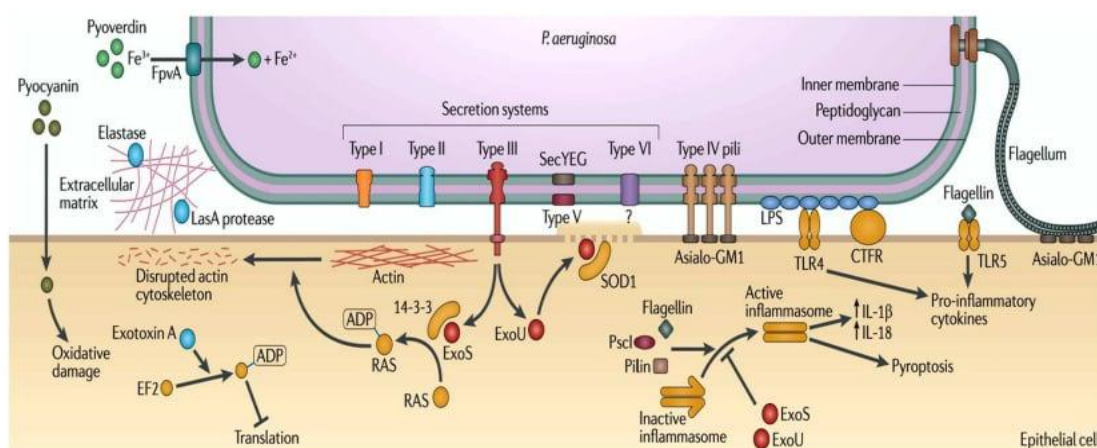
Parmi les facteurs de virulence sécrétés par le bacille pyocyanique, deux lectines solubles ont été découvertes récemment : PAIL (*Pseudomonas aeruginosa* I lectin) spécifique du galactose et PAIIL de forte affinité pour le fucose. Ces deux protéines sont présentes dans le cytoplasme de la bactérie et à la surface de la membrane externe. Ces lectines pourraient être impliquées dans la reconnaissance et l'adhésion bactérie-hôte, bactérie-bactérie et bactérie-biofilm. La lectine PAIIL inhibe le battement ciliaire des cellules pulmonaires [35].

## 1-2-6- Biofilm

Un biofilm correspond à un agglomérat bactérien attaché à une surface et enrobé dans une matrice d'exopolysaccharides. Il se constitue progressivement en couches bactériennes successives et un facteur de résistance de la bactérie face à son environnement. Il gêne en effet la pénétration des ATB et permet de résister à la phagocytose et aux anticorps.

Au sein du biofilm, les bactéries ont une croissance ralentie qui leur permet de survivre aux environnements hostiles. Les bactéries en surface sont en aérobie, tandis que celles à la base du biofilm se développent en quasi anaérobie. Des canaux aqueux permettent d'acheminer les nutriments et l'oxygène et d'éliminer les déchets.

On retrouve souvent ce biofilm dans l'environnement (surface interne des canalisations d'eau ou d'air). Il peut aussi se développer à la surface des tubes endotrachéaux des patients ventilés et de ce fait être à l'origine de pneumopathies acquises sous ventilation. Enfin, il joue un rôle clé dans la persistance du bacille pyocyanique au niveau des voies respiratoires au cours des pneumopathies chroniques, telle que la mucoviscidose [35] (**Figure 9**).



**Figure 9.** Représentation générale des facteurs de virulence de *P. aeruginosa* [17].

### 2- Pouvoir pathogène

Les infections à *P. aeruginosa* sont remarquables, elles sont polymorphes dans leurs expressions cliniques et dans leurs localisations [28].

Il s'agit d'une bactérie saprophyte, pathogène opportuniste, qui peut provoquer des infections multiples. Il s'agit alors d'infestations massives (chez les nageurs de piscines contaminés) ou d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ou ostéomyélites d'inoculation) [39, 40].

Ses faibles exigences métaboliques en font un contaminant des solutions aqueuses de toutes natures, il est facilement amené en milieu hospitalier : médicaments, eaux d'évier, solutions aqueuses diverses, toutes surfaces humides. [41,42].

### 3- Les infections à bacille pyocyanique

Du fait de son caractère ubiquitaire, les sites d'infections du bacille pyocyanique sont multiples. Il est donc impliqué dans les infections nosocomiales ou associées aux soins et chez le sujet immunodéprimé, il peut être aussi à l'origine d'infections aiguës communautaires. Ces infections se présentent sous forme de [35] :

#### 3-1- Infections pulmonaires

Les pneumopathies à *P.aeruginosa* peuvent s'exprimer sous deux formes différentes: les pneumopathies aiguës typiquement retrouvées chez le patient intubé et ventilé en service de soins intensifs (pneumopathies nosocomiales) et les infections chroniques survenant chez les patients atteints de mucoviscidose ou de bronchectasie (dilatation des bronches) [43].

Les pneumopathies primitives sont ainsi exceptionnelles chez le sujet sain. L'origine hématogène des pneumopathies est également rare, elle est principalement liée aux dispositifs intravasculaires ou aux neutropénies post chimiothérapie anticancéreuse.

Dans ce cas, elles accompagnent la bactériémie et sont de mauvais pronostic (Mortalité de 30 à 50%) [44].

#### 3-2- Bactériémies

La plupart des infections à bacille pyocyanique peuvent se compliquer de bactériémies. Elles peuvent toucher les nouveau-nés et les adultes dans un contexte d'immunodépression (hémopathie,



neutropénie, diabète, VIH, greffe, brûlure). Parmi les portes d'entrée, on retrouve les infections urinaires, les pneumonies, les complications post-chirurgicales, les surinfections cutanées et les infections de dispositifs invasifs (cathéters, sondes) . Le pronostic de ces bactériémies est souvent sévère et varie selon la pathologie sous-jacente, l'âge et la rapidité de mise en place d'un traitement antibiotique adapté [44].

### **3-3- Infections urinaires**

Elles sont très souvent d'origine nosocomiale. *P.aeruginosa* est fréquemment isolé des infections du tractus urinaire compliquées, dans certaines prostatites, des infections associées aux cathéters. La formation de biofilm liée à l'instrumentation du système urinaire, ainsi que l'antibiothérapie préalable constituent les principales causes. Quant aux infections communautaires acquises du tractus urinaire, elles sont rarement causées par le *P aeruginosa*.

Le traitement dépend de la présence d'anomalies structurelles, de cathéters, de la présence ou non de septicémie. Il est à noter que la prévalence de la résistance aux antibiotiques est augmentée chez les personnes ayant des infections urinaires à répétitions [45,46].

### **3-4- Infections oto-rhino-laryngologiques (ORL)**

Le bacille pyocyanique n'est pas un saprophyte courant du conduit auditif externe (seulement 1% des individus sains en sont porteurs), mais il colonise volontiers ce conduit en cas d'inflammation locale, d'un traumatisme ou s'il demeure humide (nageurs). C'est ainsi le premier agent pathogène responsable des otites externes. Cette otite externe simple peut évoluer vers l'otite externe maligne chez le sujet diabétique, âgé ou chez les sidéens. Il s'agit d'une extension aux cartilages, tissus mous et osseux de proximité (mastoïdite, ostéomyélite temporale) [47].

### **3-5- Infections cutanées**

Chez l'homme sain, *P. aeruginosa* peut être responsable d'onyxis et périonyxis (ongle vert) et surinfecter une lésion interdigitale mycosique ou un ulcère de jambe. Des cas de folliculites à pyocyanique ont aussi été observés chez les utilisateurs de spas ou bassins de balnéothérapie contaminés.

Chez les leucémiques, on peut retrouver des lésions cutanées caractéristiques (*ecthyma gangrenosum*) au décours de bactériémie.

Enfin, l'évolution de l'infection dépend ensuite de l'état immunitaire du patient, la bactérie s'installe plus facilement chez les patients immunodéprimés, les patients diabétiques ou les grands brûlés. La colonisation des lésions est en effet rapide et la mortalité associée élevée. Chez les sujets sains, les infections sont généralement superficielles [17].

### **3-6- Infections oculaires**

Le bacille pyocyanique est parfois présent à l'état de saprophyte dans les culs-de sac conjonctivaux, cette colonisation chez les porteurs de lentilles de contact à port prolongé par formation d'un biofilm sur les lentilles. L'usage inapproprié d'un anesthésique de contact ou de collyres souillés, de solutions de nettoyage de lentilles de contact contaminées ou de l'eau du robinet sont des vecteurs de contamination possibles du bacille pyocyanique au niveau oculaire

*P.aeruginosa* peut être responsable d'infections oculaires superficielles (blépharoconjunctivites) et il est impliqué dans des surinfections bactériennes d'ulcérations cornéennes. Ils peuvent conduire à une panophtalmie (fonte purulente de l'œil) qui constitue une complication redoutable de la chirurgie ophtalmologique [35,48].

### **3-7- Infections méningées**

Ce sont des infections rares, le plus souvent suite à une intervention neurochirurgicale ou suite à une inoculation avec un corps étranger après un traumatisme crânien. Il peut aussi s'agir d'une extension de l'otite maligne externe [35].

### **3-8- Endocardites**

Les endocardites dues au bacille pyocyanique sont rares, sauf chez les toxicomanes. On peut également les retrouver après une chirurgie cardiovasculaire [35].

### **3-9- Infections ostéo-articulaires**

Infections à *P.aeruginosa* des os et des articulations est un résultat de l'inoculation directe de la bactérie ou la dissémination hématogène des bactéries provenant d'autres sites d'infection primaire. Infections transmissibles par le sang sont le plus souvent observées chez les utilisateurs de drogues injectables et en liaison avec des voies urinaires ou des infections pelviennes. *P.aeruginosa* a un tropisme particulier pour les articulations cartilagineuses du squelette axial. *P.aeruginosa* a cause

ostéomyélite chronique contiguë, en général résultant de l'inoculation directe de los et est le pathogène le plus fréquemment impliqué dans les ostéochondrite après les blessures par perforation du pied [35].

### **3-10- Infections digestives**

Elles sont rares. Il existe des formes cliniques plus ou moins sévères. Classiquement, on retrouve une entérite aigue qui fait suite à un usage prolongé d'ATB à large spectre ou à l'absorption d'eaux contaminées [35].

## **VI- Epidémiologie de *P. aeruginosa***

### **1-Réservoirs et vecteurs**

Le milieu hospitalier est l'habitat idéal pour le développement et l'invasion de *P.aeruginosa*, où il peut contaminer les points d'eau (douches, éviers, lavabos) ainsi que le matériel médical (endoscopes, nebulisateurs, respecteurs artificiels, équipements de dialyse, bains Marie) [50].

De façon générale, *P. aeruginosa* n'est pas un membre de la microflore normale humaine. Mais cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée. Il a été démontré que les populations hospitalières (patients et personnel médical) peuvent être réservoirs et vecteurs potentiels de la bactérie notamment lorsque les mesures générales d'hygiène ont été mal ou non appliquées. Chez ces populations (particulièrement les patients admis en réanimation), il peut se comporter comme un commensal peu fréquent, les sujets étant porteurs de cette bactérie, principalement au niveau digestif (selles) mais aussi des voies aériennes supérieures (nasopharynx) et de la peau (plis cutanés humides) [50,1].

### **2- Mode de transmission**

La transmission peut être exogène à partir de réservoirs environnementaux, du matériel contaminé et par le personnel soignant (mains) ; ou endogène à partir d'un site colonisé (tube digestif, urine, peau) [50,51].

Il a été établi que *P. aeruginosa* pouvait survivre dans les microgouttelettes et peut demeurer longtemps en suspension dans des aérosols, d'où le risque de transmission par voie aérienne [52].

Une des principales voies de transmission est le contact avec de l'eau contaminée, mais comme la dose orale infectieuse est très élevée, les voies de transmission qui présentent les plus grands risques pour la santé sont l'exposition cutanée (par exemple dans l'eau contaminée des cuves thermales) et l'exposition pulmonaire à des aérosols inhalés qui ont été projetés par des personnes infectées hors de leurs voies respiratoires. La bactérie peut souvent pénétrer dans l'organisme par des blessures et des plaies. Le recours à des ventilateurs mécaniques contaminés dans les hôpitaux est également une source courante d'infections nosocomiales [53, 54, 55].

### **3- Facteurs de risque**

Il existe plusieurs facteurs favorisants qui peuvent bien évidemment augmenter le risque à ces infections pyocyaniques. Ces facteurs peuvent être classés en :

#### **3-1- Facteurs favorisants liés à l'hôte (intrinsèques)**

Principalement, ce sont :

- Antécédents d'hospitalisation ou de colonisation par *P.aeruginosa*.
- Présence de comorbidités (scores de gravité élevés : diabète et bronchopneumopathie chronique obstructive).
- Diminution des défenses de l'organisme (transplanté, hémodialysé, VIH).
- Rupture des barrières mécaniques cutanéomuqueuses qui favorise la colonisation des muqueuses ou des plaies précédant l'infection locale et /ou générale.

#### **3-2- Facteurs favorisants liés à la prise en charge (extrinsèques)**

- La durée d'hospitalisation prolongée.
- Le nombre élevé de dispositifs invasifs.
- Les traitements ATB, particulièrement les carbapénèmes et les fluoroquinolones mettant une très forte pression de sélection d'isolats très résistants, et constituant les facteurs de risques les plus souvent retrouvés.
- Les facteurs environnementaux comme la présence de la bactérie dans les points d'eau représentent également un facteur de risque important [50,56].

## **VII- Résistance aux antibiotiques**

La résistance bactérienne à un ATB est définie comme la capacité d'une bactérie à survivre à une concentration bien déterminée de cette molécule [57].

Particulièrement à l'hôpital, *P. aeruginosa* pose beaucoup de problèmes de traitement parce qu'il devient facilement résistant aux ATB [21].

### 1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Sur le plan génétique, il existe deux grands types de résistance aux ATB :

#### 1-1-Résistance naturelle (ou intrinsèque ou insensibilité)

La résistance naturelle est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée, elle délimite le spectre naturel de l'ATB et constitue une aide à l'identification [49, 58].

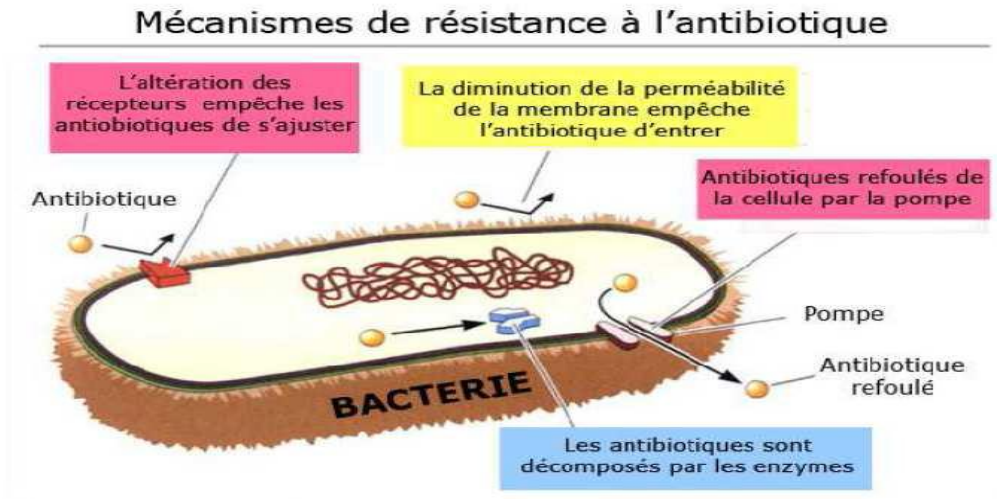
#### 1-2-Résistance acquise

La résistance est dite acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un ATB y deviennent résistantes. La résistance acquise se caractérise donc par l'apparition d'une résistance à un ou plusieurs ATB chez certaines bactéries qui étaient auparavant sensibles. Elle peut être soit chromosomique (mutation d'un gène) ou extra-chromosomique (plasmides) [59, 60].

Sur le plan biochimique, les bactéries ont développé quatre grands mécanismes d'acquisition de la résistance (**Figure 10**):

- a- Sécrétion d'enzymes d'inactivation** : qui va décomposer l'ATB ;
- b- Modification de la cible**, qui entraîne une perte d'affinité de l'ATB pour sa cible.
- c- Imperméabilité**, notamment par diminution du diamètre des porines chez les bacilles à Gram négatif.
- d- L'efflux des antibiotiques**, c'est l'excrétion de l'ATB à l'extérieur de la cellule bactérienne à travers la membrane cytoplasmique, par une pompe à efflux construite d'une protéine produite par la bactérie. Le fonctionnement de cette pompe nécessite de l'énergie.

Le motif commun à ces différents mécanismes de résistances est d'empêcher l'interaction de l'ATB avec sa cible. Et parfois, c'est une association de plusieurs mécanismes [14,21].



**Figure 10.** Mécanismes de résistance aux Antibiotiques [61]

## 1-3-La multi-résistance

La multi-résistance chez *P.aeruginosa* est habituellement décrite comme la résistance ou la diminution de la sensibilité à au moins deux ou trois classes d'ATB actifs sur les souches sauvages : bêta-lactamines, fluoroquinolones et aminosides [62,63].

## 2-Mécanismes de résistance par famille d'antibiotiques

### 2-1-Les bêta-lactamines

#### 2-1-1- La résistance naturelle

*P. aeruginosa* est naturellement résistant à de très nombreuses bêta-lactamines :

- Par une mauvaise perméabilité membranaire ;
- l'existence de mécanismes d'efflux actif ;
- et par une production d'une céphalosporinase chromosomique inductible [51].

Ainsi, *P. aeruginosa* est naturellement résistant aux aminopénicillines, aux pénicillines M, aux C1G (céphalosporine de première génération) et C2G (céphalosporine de deuxième génération), à certaines C3G (céphalosporine de troisième génération) comme le céfotaxime et la ceftriaxone, et à un carbapénème : l'ertapénème.

Les bêta-lactamines restant actives sur cette espèce sont les carboxypénicillines (ticarcilline, ticarcilline-acide clavulanique), les uréidopénicillines (pipéracilline), certaines céphalosporines C3G et les C4G (ceftazidime, cefépime), les carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème), les monobactams (aztréonam) [51,64].

Il est très important de noter qu'il n'y a pas de zone intermédiaire pour de nombreuses bêta-lactamines ce qui rend difficile l'interprétation des résultats [51].

### 2-1-2- La résistance acquise

#### a-Résistance enzymatique

##### ➤ Résistance par hyperproduction de la céphalosporinase Amp C

Les céphalosporinases appartiennent à la classe C de la classification d'Amblar, ce sont des sérines enzymes. La surexpression constitutive du gène Amp C codant la bêta-lactamase est le mécanisme enzymatique le plus fréquent, il s'effectue par une mutation chromosomique de gènes régulateurs Amp C et la surexpression constitutive du gène affecte principalement l'activité de la ticarcilline, de la pipéracilline, de l'association pipéracilline-tazobactame, de la ceftazidime, de l'aztérionam, et dans une moindre mesure du céfépime.

L'hyperproduction de céphalosporinase de type Amp C permet à *P.aeruginosa* de résister à toutes les bêta-lactamines à l'exception des carbapénèmes, le niveau de résistance sera donc en relation avec la quantité d'enzyme Amp C produit [65].

Le gène du *P.aeruginosa* codant pour AmpC n'a pas encore été identifié sur des plasmides. Il n'est donc pas, à priori, transmis à d'autres espèces, comme c'est le cas d'AmpC plasmidiques des entérobactéries [35].

##### ➤ Résistance par production de pénicillinases

Parmi les pénicillinases, on peut citer PSE-1 (pour *Pseudomonas specific enzyme*), PSE-4, PSE-3 [66].

Toutefois, la pénicillinase majoritaire est PSE-1 (représente 90% des cas). Ces enzymes sont étroitement liées, et ne diffèrent que par 1 ou 2 acides aminés [67,68].

Ces pénicillinases ont la capacité d'hydrolyser les carboxypénicillines, uréidopénicillines, les C4G, la céf sulodine et sont inactives sur le ceftazidime et les carbapénèmes [68].

##### ➤ Résistance par production de bêta-lactamases à spectre étendue (BLSE)

Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) hydrolysent non seulement les carboxypénicillines, et les uréidopénicillines, mais aussi les céphalosporines (ceftazidime (C3G), céfépime (C4G), et

## Revue bibliographique

l'aztréonam) [69]. L'activité *in vitro* est inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam [70]. En plus des BLSE de type TEM et SHV qui sont largement décrites chez les entérobactéries, d'autres BLSE ont été identifiées chez *P. aeruginosa* : PER-1, VEB (1a, 1b, 2), GES (1, 2, 5, 8, 9), BEL-1, KPC.

La diffusion des gènes de classe A des BLSE joue un rôle important dans la diffusion de la résistance aux ATB, et peut limiter ainsi les possibilités de traitement des infections causées par *P. aeruginosa* [71,72].

**Tableau 1.** Principales bêta-lactamines produit par *P. aeruginosa*

Classification d'Ambler	Groupe	Enzymes
Classe A / pénicillinase	PSE	PSE-1, 3 à 5; CARB-3, 4
	TEM	TEM-1, 2, <b>4, 21, 24, 42, 45</b>
	SHV	<b>SHV-2a, 5, 12</b>
	Autres	<b>PER-1; VEB-1a, 1b, 2; GES-1,2; IBC-2</b>
Classes B / carbapénémases		<u>IMP-1 7.9: VIM-1 à 4</u>
Classes C / céphalosporinases		Amp C [71]
Classes D / oxacillinases	I	OXA-5, 7, 10 (PSE-2), <b>11, 13, 14 à 17, 19, 28, 35, 45</b>
	II	OXA-2, 3, <b>15, 20, 32, 34, 36, 53</b>
	III	<b>OXA-1, 4, 3031</b>
	IV	OXA-9
	V	<b>LCR-1, NPS-1 [72]</b>

**NB :** Les bêta-lactamases à spectre étendu sont notées en gras et les métalloenzymes sont soulignées.



### ➤ Résistance par production de carbapénèmases (MBLs)

Les carbapénèmases de type Métallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) sont devenues les carbapénèmases les plus répandues et les plus significatives chez *P. aeruginosa*. Ces enzymes possèdent dans leur site actif un cation indispensable à leur activité qui est invariablement le Zinc ( $Zn^{2+}$ ). En outre, l'activité de ces enzymes est inhibée par l'addition de chélateur d'ions bivalents (EDTA). Ce sont des métalloprotéines, chromosomiques ou plasmidiques, qui ont une activité catalytique beaucoup plus forte que les autres  $\beta$ -lactamases et hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines sauf l'aztréonam [70]. Ces carbapénèmases acquises constituent sept groupes décrits chez *P. aeruginosa* : IMP (active sur l'IMiPenem), VIM (Verona Integron-encoded Metallo- $\beta$ -lactamase), SPM (Sao-Paulo Metallo- $\beta$ -lactamase), AIM (Australia IMipenemase), GIM (German IMipenemase), NDM-1 (New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase) et FIM-1. Les types IMP et VIM demeurent les MBLs les plus rapportées dans le bassin méditerranéen chez *P. aeruginosa* [64,73].

### b-Mécanismes non enzymatiques

#### ➤ systèmes d'efflux actif

Plusieurs protéines agissent en tant que composants actifs des systèmes d'efflux Opr M, Opr J, Opr N, sans oublier le système Mex AB-Opr M [51].

Chaque système a une spécificité de substrat :

- **Mex AB-Opr M** : efflue la quasi-totalité des bêta-lactamines sauf l'imipénème, les fluoroquinolones, les macrolides, la lincomycine, la tétracycline, le triméthoprime, le chloramphénicol et la novobiocine [74].
- **Opr M** : élimine les aminoglycosides, les quinolones, les bêta-lactamines zwitterioniques (présentant un même nombre de charges électriques de signes opposées tel que le céfépime), les macrolides et la tétracycline [75].
- **Opr N** : efflue les quinolones, les aminoglycosides, le triméthoprime, le chloramphénicol et certaines bêta-lactamines comme les carbapénèmes mais aussi la ceftazidime, le céfépime, la ticarcilline ou l'aztréonam [76].
- **Opr J** : élimine les quinolones, les bêta-lactamines zwitterioniques, les macrolides, la tétracycline, le chloramphénicol et le triméthoprime [77].

### ➤ **Altération de la porine OprD**

Le déficit en porine OprD, protéine de la membrane externe empruntée spécifiquement par les carbapénèmes pour franchir la membrane externe de *P.aeruginosa* se traduit par une imperméabilité membranaire. La réduction de l'expression de cette porine conduit à une baisse totale de l'activité de toutes les carbapénèmes [73].

### ➤ **Modification de la cible « protéine de liaison à la pénicilline»(PLP)**

L'efficacité de la fixation de bêta-lactamines sur leurs cibles PLPs peut être diminuée à la suite des mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour des PLPs nouvelles. Ces mutations peuvent aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLPs, avec diminution de l'affinité pour les bêtalactamines [78].

## **2-2- Aminosides**

Les aminosides sont des ATB importants du traitement de *P. aeruginosa*, souvent utilisés en association avec les bêta-lactamines.

### **a- Modification enzymatique**

Le mécanisme majeur de la résistance aux aminosides repose sur la modification enzymatique de certains groupements chimiques de ces ATB. Trois classes d'enzymes ont été décrites chez *P. aeruginosa* : les N-amino-acétyltransférases (AAC) qui catalysent l'acétylation des fonctions –NH<sub>2</sub>, les O-phosphotransférases (APH) qui permettent la phosphorylation des fonctions –OH, et les O-nucléotidyltransférases (ANT) qui jouent un rôle dans la nucléotidylation des fonctions –OH [79,80]. Leurs gènes sont fréquemment portés par des éléments mobiles (intégrons, plasmides ou transposons) et sont souvent associés à la résistance aux bêta-lactamines et aux fluoroquinolones [81].

La nomenclature de ces enzymes est constituée d'1 à 3 lettres identifiant l'activité de l'enzyme suivie par le site de la modification entre parenthèses (classe), un chiffre romain correspondant au profil de résistance qu'ils confèrent aux cellules hôtes (sous-classe), et une lettre minuscule qui est un identificateur individuel [81].

Exemple les enzymes ANT (2')-I (détermine la résistance à la gentamicine et à la tobramycine), AAC(3)-I (résistance à la gentamicine), AAC (6')-II (résistance à la tobramycine, nétilmicine et

gentamicine) et AAC (6')-Ib (résistance à la tobramycine et à l'amikacine) sont les plus répandues chez les isolats cliniques de *P. aeruginosa*. Leur production simultanée chez une même bactérie se traduit par une résistance à tous les aminosides les plus utilisés (tobramycine, amikacine, nétilmicine et gentamicine) [69].

L'AAC (6')-Ib semble être l'acétyltransférase le plus important sur le plan clinique. Son variant AAC (6')-Ib-cr initialement détecté chez les entérobactéries, se traduit par une sensibilité réduite aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa* [82].

### **b- Modification de la perméabilité membranaire**

Chez les souches cliniques, l'altération des différents gènes impliqués dans la biosynthèse des lipopolysaccharides (des composants de la membrane extérieure de la bactérie) comme le locus *rfb* conduit au phénotype «rough» (aspect sec et rugueux) accompagné des fois d'une baisse modérée de la sensibilité à l'ensemble des aminosides [83,85].

### **c- 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'ATB. Naturellement réprimé chez les souches sauvages, ce système peut être surproduit chez certains mutants. Lorsque ces mutations surviennent, la surexpression constitutive de l'opéron *mexXY* qui en résulte entraîne une résistance modérée aux aminosides, mais également aux fluoroquinolones et au céfépime [85].

### **d- Résistance par modification de la cible ribosomale**

La méthylation de l'ARNr 16s a récemment émergé comme nouveau mécanisme de résistance aux aminosides [85].

Le gène *rmt A* qui code pour une méthylase de l'ARNr 16s procure à la bactérie une résistance de haut niveau à l'amikacine, la tobramycine, l'isépamicine, l'arbakacine et la gentamicine [86].

### **e- Rôle de l'opéron *oprH-phoP-phoQ* dans la résistance aux aminosides**

Le gène *oprH* se trouve associé dans un même opéron aux gènes *phoP* et *phoQ* qui codent pour un système de transduction de signal.

La surexpression de la protéine de membrane externe OprH a été observée chez les souches mutantes de *P.aeruginosa* présentant une résistance élevée aux aminosides sauf la gentamycine. Il semblerait que le système PhoP-PhoQ intervienne indirectement dans la résistance aux aminosides.

Ainsi, il a été observé au niveau de différents mutants de *P.aeruginosa* affectés dans les gènes *phoP* ou *phoQ* une légère augmentation de la résistance à l'amikacine et à la streptomycine [87].

### 2-3- 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 de résistance acquise au sein de l'espèce. Deux principaux mécanismes conduisent à la résistance aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa*: des changements structurels dans les enzymes ADN gyrase et topoisomérase IV qui représentent les cibles des fluoroquinolones et l'efflux actif [88].

#### a- Par modification de la cible

La modification de la cible primaire pour les fluoroquinolones (ADN gyrase, également connue sous le nom de topoisomérase II) se produit par des mutations ponctuelles dans les régions où se fixe l'ATB, appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Regions) dans les gènes *gyrA* / *gyrB*, qui code les deux sous unités de l'enzyme ADN gyrase, GyrA, et GyrB.

Les modifications de la cible secondaire (topoisomérase IV) se produisent à la suite de mutations ponctuelles dans les gènes *parC* et *parE* codant deux sous-unités de cette enzyme, ParC et ParE respectivement [89].

L'association de mutation à la fois dans GyrA et ParC conduit à de très haut niveau de résistance [90].

#### b- 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'ATB. Un nouveau membre de la famille des pompes à efflux tripartite, MexV (protéine de fusion de membrane)-MexW (de type RND protéine membranaire)-OprM, qui confère une résistance aux fluoroquinolones. 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 topoisomérase IV [91, 92, 93].

### VIII-Epidémiologie de la résistance

Au vu de la capacité de *P. aeruginosa* à acquérir des multiples résistances aux ATB, principalement lors d'Infections Associées aux Soins (IAS), un groupe international d'experts a été réuni à l'initiative de l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) et des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dans le but de créer une terminologie internationale standardisée pour décrire des profils de résistance acquise aux ATB. Ces profils, largement repris par la suite dans la littérature sont : profil *MultiDrug Resistant* (MDR), profil *Extensively Drug Resistant* (XDR); profil *PanDrug Resistant* (PDR) et profil non *MultiDrug Resistant* (Non-MDR) [94,95,96].

De nombreuses épidémies hospitalières ont été identifiées de par le monde ces dernières décennies en lien avec des isolats MDR ou XDR. Le taux d'isolats MDR ou XDR est estimé entre 15 et 30% dans de multiples régions géographiques.

Des données de typage ont déterminé que ces isolats appartenaient à un nombre limité de clones, appelés clones épidémiques à haut risque [97].

En Europe, en 2018, 32,1% des isolats invasifs étaient résistants à au moins une famille d'ATB. Le pourcentage de souches de *P. aeruginosa* ayant une résistance combinée (définie par une résistance à au moins 3 groupes d'ATB parmi pipéracilline ± tazobactam, ceftazidime, fluoroquinolones, aminosides et carbapénèmes) était de 12,8%. Le taux d'isolats résistants aux 5 groupes d'ATB précédemment listés était de 4,1% en 2018 [97].

En France en 2016, le taux de résistance d'isolats cliniques de *P. aeruginosa* du « réseau Microbiologistes du Nord Pas de Calais » hospitalier (5,237 isolats, 36,8% respiratoires, 32,7% urinaires, 5,5% d'hémocultures et 25% d'autres sites anatomiques) variait de 11,5% (pour l'amikacine) à 46,9% (pour la ticarcilline). Le taux de souches multirésistantes (sensibilité intermédiaire ou résistance à la ticarcilline, la ceftazidime et l'imipénème) a diminué de 9,8% en 2008 à 6,6% en 2016 [98].

La résistance aux ATB des souches urinaires de *P. aeruginosa* est particulièrement importante. En effet, en France en 2018, les souches urinaires représentaient le principal contexte d'isolement 35% des souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et/ou aux carbapénèmes envoyées pour expertise au CNR de Besançon [99].

Ainsi, *P. aeruginosa* fait partie des pathogènes ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*

*spp.*), responsables d'infections nosocomiales et qui échappent au traitement du fait de leur multirésistance aux ATB. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a inclus cette espèce bactérienne dans le groupe critique de la liste des « agents pathogènes prioritaires », multirésistants aux ATB, considérés parmi les plus menaçants pour la santé humaine et particulièrement dans les structures de soins [95, 97, 100, 101].

En Algérie en 2020, 1189 souches de *P. aeruginosa* sont isolées au CHU de Tizi Ouzou, le taux de résistance d'isolats cliniques. Prélevées de 27,1% des pus, 24,5 % pulmonaires, 17,9 % urinaires.

La résistance de ces souches de *P. aeruginosa* aux ATB testés était différente d'une famille à l'autre. Pour la famille des bêta-lactamines, une égalité entre de la céftazidime et de l'imipénème représentant la résistance la plus basse tandis que la résistance la plus grande était pour la ticarcilline associée à l'acide clavulanique dont l'évolution était semblable à celle de la ticacilline.

Pour les aminosides, une diminution de la résistance en 2018 suivie d'une augmentation en 2019.

La ciprofloxacine et la lévofloxacine avaient presque la même évolution de la résistance. De 2015 à 2018, *P. aeruginosa* était plus résistant à la lévofloxacine alors qu'à la fin de 2018 à 2019, la résistance à la ciprofloxacine est devenue plus grande que celle de la lévofloxacine.

En étudiant l'évolution de la résistance des deux antibiotiques restants, on trouve que la fosfomycine a connu un pic minimal remarquable en 2018 alors que l'évolution de la colistine était toujours nulle sauf en 2016 marquant une valeur de 2,5 %.

Pour ce qui est de la production des BLSE par le *P. aeruginosa*, elle a connu une augmentation durant la période d'étude en passant de 0% en 2015 à un pic de 15,4% en 2018 [48].

Néanmoins, les mesures d'hygiène et de surveillance, associées au bon usage des ATB, ont permis de limiter l'émergence d'IAS causées par des souches multirésistantes de *P. aeruginosa*. En effet, bien que le taux de résistance de cette bactérie aux ATB demeure élevé, la mise en place de mesures préventives a permis de réduire de 29% les infections causées par des souches de *P. aeruginosa* de phénotype MDR aux Etats-Unis, entre 2013 et 2017. En France, une diminution de la proportion d'infections nosocomiales causées par *P. aeruginosa* en 2017 a été observée par rapport à l'année 2012 (6,3% versus 8,4%) [93,103].

## **IX- Diagnostic**

### **1- Prélèvement**

Les résultats des examens bactériologiques dépendent pour une grande partie des conditions de prélèvements et de transport.

Les prélèvements permettant de mettre en évidence une bactérie responsable d'une infection dépendent du site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques comme le liquide pleural dans lesquels la bactérie peut être détectée.

Ces prélèvements sont soit de consistance liquide (urine, pus, liquide céphalorachidien, liquides d'épanchement, etc.) soit de consistance solide (cathéters, drain, matériel prothétique, etc.). Dans le cas des hémocultures, le prélèvement de sang est directement mis dans un flacon de culture spécial dès sa réalisation [104].

### **2- Examen macroscopique**

Il permet de noter les caractères macroscopiques du prélèvement : l'aspect (Purulent, hématique,... etc.) ; la couleur et l'odeur.

### **3- Examens microscopiques**

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué en deux phases:

#### **3-1- Examen à l'état frais**

C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle un prélèvement bactérien à l'objectif x 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité des bactéries [104].

Par ailleurs, lors de cette observation, seront évaluées les cellules avec une appréciation semi-quantitative (rare, peu nombreux, nombreux, très nombreux par champ ...) ou mieux quantitative, exprimée par nombre d'éléments/ mm<sup>3</sup> grâce à des hématimètres, comme la cellule de Nageotte ou la cellule de Malassez pour : LCR, liquide de pleural, liquide d'ascite, liquide articulaire, urines, liquide Synovial.

### **3-2- Examen après coloration**

#### **3-2-1- Coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène permet la mise en évidence de la forme, la taille et le mode de regroupement des bactéries à l'objectif x 100. Cette technique est utilisée également pour confirmer l'étude cytologique faite au cours de l'examen à l'état frais [32].

#### **3-2-1- Coloration de GRAM**

La coloration de Gram est une coloration double différentielle, réalisée lors d'un examen microscopique de bactéries. Elle permet non seulement d'observer la forme des cellules mais aussi de diviser les bactéries en deux grands groupes taxonomiquement différents : bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif [105].

### **4- Culture**

*P.aeruginosa* cultive en aérobiose sur milieu simple, à 37°C. L'isolement et les repiquages sont réalisés sur milieux ordinaires, et à des températures comprises entre 25 et 42 °C, aussi que sur milieux sélectifs, comme le milieu Hektoene [105].

### **5- Identification**

L'identification est faite sur la base des différentes informations relatives à l'aspect des colonies, à la coloration de Gram [49].

L'identification d'espèce peut reposer sur les caractères biochimiques (galeries classiques ou automates, test oxydase) et le sérotypage [1].

### **6- Antibiogramme**

L'antibiogramme sert à orienter le schéma thérapeutique, à étudier la résistance aux ATB des souches isolées et à faciliter la surveillance épidémiologique de la résistance.

L'antibiogramme est réalisé par la méthode conventionnelle de diffusion des disques en milieu gélosé de Mueller-Hinton [105].



**Deuxième partie :**  
**Matériels et méthodes**

### **I- Lieu et durée du stage**

Ce stage a duré cinq mois (25 avril au 15 septembre 2021). Il a été réalisé au niveau du Service de Microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine (CHUC).

### **II- Type de l'étude**

Il s'agit de :

- Une étude rétrospective portant sur des résultats bactériologiques de différents prélèvements provenant des patients hospitalisés et des patients traités en externe sur une période de 20 mois (du 1 janvier 2020 au 31 août 2021), **20666 souches** ont été isolées durant la période d'étude.
- Une étude prospective (du 1 janvier au 15 septembre 2021) portant sur l'identification phénotypique de **418 souches**.

### **III- Matériels et Méthodes**

#### **1- Techniques de prélèvement**

Les prélèvements sont réalisés avant toute antibiothérapie et valables pour tous les patients

#### **1-1- Prélèvements urinaires**

##### **a- Chez l'adulte**

- Recueil si possible le matin, au lever, sinon au moins 4 heures après la dernière miction ;
- Se laver soigneusement les mains avec un savon ;
- Faire une toilette intime soignée à l'eau et au savon si le recueil se fait au domicile du patient ou avec une lingette antiseptique si le recueil est réalisé au laboratoire ;
- Ouvrir le flacon stérile au dernier moment et sans toucher ni l'intérieur du flacon, ni l'intérieur du couvercle ;
- Il est essentiel de ne recueillir que le mi-jet ;
- Uriner ensuite directement dans le flacon et le refermer soigneusement sinon recueillir dans un tube stérile (environ 20 ml);
- Identifier l'échantillon et noter sur le flacon ou le tube : nom, prénom, âge, ainsi que la date et l'heure du recueil [12].

### **b- Chez le nourrisson**

Le prélèvement peut être réalisé par un parent ou le personnel de santé :

- Se laver très soigneusement les mains ;
- Installer l'enfant sur le dos les jambes écartées, comme pour lui mettre une couche ;
- Nettoyer soigneusement la zone uro-génitale à l'eau et au savon. Un antiseptique peut être utilisé sur prescription médicale ;
- Placer une poche à urine en faisant attention à ne pas toucher l'intérieur de la poche ;
- A la fin de la miction, le sac est fermé hermétiquement ;
- le dispositif doit être gardé seulement 30 minutes sinon il faut refaire l'opération [25].

### **c- Chez le patient sondé à demeure**

Chez un patient porteur d'une sonde urinaire le recueil se fait par ponction (seringue) sur un site spécifique dans la paroi de la sonde en respectant les étapes suivantes :

- Clamper le tuyau de la sonde, en dessous du site de prélèvement 10 à 15 minutes avant le prélèvement ;
- Réaliser une désinfection des mains par friction ;
- Porter des gants stériles
- Désinfecter le site de prélèvement avec des compresses imprégnées d'alcool à 70 ou un autre antiseptique ;
- Réaliser la ponction et transvaser dans un tube stérile [25].

### **1-2- Prélèvements de pus**

Le prélèvement se fait :

#### ➤ **Soit par écouvillonnage d'une plaie superficielle**

- Un écouvillon que l'on peut immerger ou imbiber de milieu de transport est préférable à un écouvillon sec qui ne permet pas la recherche de germes anaérobies.
- On lave la plaie avec du sérum salé.

- On repérera et on prélèvera les traces purulentes qui devront être échantillonnées. En leur absence, le prélèvement devra être réalisé au fond de la plaie ou aux endroits peu accessibles aux contaminations.

➤ **Soit à la seringue purgée d'air en évitant de contaminer le prélèvement par la flore commensale**

- Il se fait par ponction du pus ou des sécrétions à analyser.

- Après désinfection de la peau avec la bétadine. On peut envoyer rapidement le prélèvement dans la seringue, après avoir recouvert l'aiguille de son capuchon et purgé l'air éventuellement présent dans la seringue. Si le délai est trop lent, utiliser un milieu de transport dans lequel on injecte le prélèvement [25].

### 1-3- Prélèvements sanguins

La ponction veineuse constitue la méthode habituelle des hémocultures :

- Nouveau-né / nourrisson : veine jugulaire.

- Adulte : veine du pli du coude.

L'hémoculture est réalisée au moment des :

- Frissons.

- Et /ou pics fébriles.

- Si la température est en plateau, le prélèvement se fait à n'importe quel moment.

Et dans des conditions d'asepsie rigoureuse :

- Le préleveur doit se désinfecter les mains et porter des gants ;

- Le site de prélèvement doit être soigneusement désinfecté du centre vers la périphérie successivement avec de l'alcool à 70° puis avec un produit iodé ;

- Le bouchon du flacon d'hémoculture est désinfecté soigneusement avec le polyvidone iodée ou de l'alcool à 70°.

On ponctionne le sang veineux à raison de :

- 5-10 ml pour l'adulte.

- 1-5 ml pour l'enfant et le nourrisson.

2 à 3 hémocultures par 24 heures sont nécessaires; un espace de temps de 30 à 60 minutes entre deux prélèvements est nécessaire.

## Matériels et méthodes

---

Les systèmes automatisés permettent une détection précoce de la croissance bactérienne. Lors de la croissance bactérienne, les bactéries produisent du CO<sub>2</sub>, entraînant une baisse du pH qui sera détectée par l'automate.

Il faut acheminer les flacons le plus rapidement possible au laboratoire où ils sont immédiatement placés à l'étuve à 37°C ou introduits dans l'automate [106].

### 1-4- Prélèvement de LCR

- Le LCR est prélevé, idéalement avant toute antibiothérapie, par ponction lombaire, après une asepsie rigoureuse de la peau, entre les vertèbres lombaires L4-L5 ou L5-S1.

- On le recueille dans un minimum de 3 tubes stériles numérotés 1, 2 et 3 :

Le tube 1 est pour l'analyse biochimique ; le tube 2 pour l'analyse cytologique ; enfin le tube 3 pour la mise en culture (recherche des bactéries).

Le volume total doit être compris entre 2 à 5 ml. Prévoir 1 à 2 ml supplémentaire en cas de recherche complémentaire comme celle des mycobactéries [25].

### 1-5- Prélèvement des liquides de ponctions

Les liquides d'épanchements (les liquides pleuraux, liquides d'ascite, liquides péricardiques, liquides de péritonite, liquides articulaires) sont précieux, car le prélèvement peut parfois se révéler difficile. La ponction est réalisée dans des conditions d'asepsie rigoureuse à l'aide d'une seringue. Le liquide (Quantité nécessaire  $\geq 3$ ml) recueilli dans un tube stérile est rapidement porté au laboratoire [12].

### 1-6- Prélèvement à partir du matériel

De nombreux dispositifs peuvent faire l'objet d'une analyse bactériologique : cathéter, sonde, drain, fil, matériel de chirurgie orthopédique,... Tout matériel sera prélevé avec précaution et acheminé au laboratoire dans un récipient stérile.

Exemple 1: Prélèvement d'une sonde : prélever des portions, ou adresser la sonde entière si elle n'est pas dissociable. Placer le prélèvement dans un récipient stérile et hermétique.

Exemple 2 : Le prélèvement distal protégé est un prélèvement envahissant qui se fait dans des conditions spéciales par des professionnels en cas de nécessité. Il consiste à réaliser un prélèvement des sécrétions pulmonaires profondes, à l'aide d'un cathéter d'aspiration qui coulisse dans une gaine obturée par un bouchon solide sous un contrôle fibroscopique. Les sécrétions ainsi recueillies sont transvasées dans un tube stérile [12].

### **2- Transport et fiche de renseignements**

- Les prélèvements doivent être réalisés stérilement et avant toute antibiothérapie de préférence, il faut les acheminer le plus rapidement possible au laboratoire car les retards de transport peuvent fausser les résultats des analyses cytologiques et bactériologiques ;
- Les conditions de transport sont essentielles à la qualité des résultats, il faut Conserver le prélèvement à température ambiante, ne pas les exposer à des températures trop chaudes ou trop froides.

Le prélèvement doit toujours être accompagné d'une fiche de renseignements qui comporte :

- Nom et prénom du malade, son âge et son sexe ;
- Date et heure du prélèvement ;
- Nature de prélèvement ;
- La température du malade au moment du prélèvement dans le cas d'hémoculture ;
- Renseignements cliniques, diagnostic présomptif ;
- Une éventuelle antibiothérapie (ATB et durée).

### **3- Techniques d'analyses**

#### **3-1- Examen macroscopique**

##### **3-1-1- Urine**

L'urine normale a une couleur claire d'aspect jaune citron tandis que l'urine infectée est souvent trouble d'odeur nauséabonde et de couleur plus foncée.

##### **3-1-2- Pus**

Lors d'un examen macroscopique d'un pus, on note la consistance, la couleur, l'aspect ainsi que la viscosité du pus.

## Matériels et méthodes

---

Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés. Ils peuvent parfois contenir des grumeaux.

### 3-1-3- LCR

Un prélèvement de LCR peut prendre différents aspects :

- Liquide clair (eau de roche) : normal ou méningite virale.
- Liquide trouble (eau de riz) : méningite purulente bactérienne.
- Liquide hémorragiques : hémorragie méningée ou blessures au cours du prélèvement.
- Liquide xanthochromique : hémorragie ancienne ou compression médullaire [111].

### 3-2- Examens microscopiques

#### 3-2-1- L'examen à l'état frais

##### a- Principe

L'état frais est une technique qui permet l'observation des bactéries vivantes entre lame et lamelle à l'objectif x 40. Le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi que leur mobilité, leur morphologie et éventuellement la présence de levures, de cristaux ou de cellules sanguines [12, 29].

L'étude de la cytologie se fait sur un hématimètre type cellule de Nageotte qui permet de compter le nombre de cellules de l'inflammation dans un prélèvement pathologique. Cette étude est surtout réalisée sur le LCR, les ponctions et les urines. Elle est qualitative et quantitative.

##### b- Technique

L'examen à l'état frais se fait directement sur un produit pathologique ou sur des cultures en milieu liquide (sur un milieu solide la mobilité s'exprime mal).

- Déposer une goutte du bouillon ou du prélèvement pathologique sur une lame propre grâce à une pipette pasteur ou à l'anse de platine ;
- Recouvrir la goutte d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air ;
- Observer immédiatement au microscope optique à l'objectif x 40.

Pour l'étude de la cytologie :

## Matériels et méthodes

---

- Remplir par capillarité avec le prélèvement pathologique la cellule de Nageotte préalablement recouverte d'une lamelle ;
- Placer sur un microscope optique à l'objectif x 40 ;
- Attendre quelques minutes pour permettre le dépôt des cellules ;
- Compter le nombre de cellules et déterminer leur nature (polynucléaires, lymphocytes).

### **c- Résultats**

A l'état frais *P. aeruginosa* apparaît sous forme de bacille très mobile se déplaçant en ligne droite grâce à son unique flagelle polaire.

### **3-2-2- La coloration au bleu de méthylène**

#### **a- Principe**

La coloration au bleu de méthylène (BM) permet de confirmer la cytologie et de différencier les cellules inflammatoires (polynucléaires, lymphocytes), de distinguer la forme, la disposition (intra ou extracellulaires), ainsi que le mode de groupement des bactéries éventuellement présentes [29].

#### **b- Technique**

- Réaliser un frottis à partir du produit pathologique et le fixer :
- Déposer sur une lame propre une goutte du prélèvement pathologique. Etaler ensuite sur la lame du centre vers l'extérieur ;
- Sécher et fixer le frottis en 2 ou 3 passages à la flamme d'un bec Bunsen.
- Couler une solution de bleu de méthylène sur le frottis ;
- Le temps de contact est de 1-10 min ;
- Rincer la lame à l'eau du robinet ;
- Sécher entre deux feuilles de papier buvard ;
- Observer au microscope à immersion, à objectif x100 ;
- Les structures colorables apparaissent bleues [107].

#### **c- Résultats**

- Les noyaux des cellules apparaissent plus foncés, ce qui permet de différencier facilement entre les différentes cellules (polynucléaires, lymphocytes, cellules épithéliales...).



## Matériels et méthodes

---

- Les bactéries sont colorées en bleu sombre. Cette coloration permet une observation rapide des frottis.

### 3-2-3- Coloration de Gram

#### a- Principe

Sur le frottis bactérien préparé, le premier colorant, le cristal violet oxalaté, va colorer en violet les bactéries, puis le lugol ( iodo-inodurée) libère de l'iode qui va fixer le colorant précédent.

Un complexe iode-cristal violet se forme ; il sera solubilisé par l'alcool à 95° lors de la phase de décoloration. Uniquement pour les bactéries à Gram -.

Le deuxième colorant, dit de contraste, la fuchsine, va colorer en rose les bactéries à Gram -. Les bactéries à Gram +, non décolorées par l'alcool vont conserver leur couleur violette [107].

#### b- Technique

- 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 ou à partir du produit pathologique et la dissocier dans la goutte d'eau. Le frottis obtenu est séché, puis fixé.
- 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 30 secondes.
- Décolorer par l'alcool pendant 30 secondes et laver rapidement à l'eau du robinet. Le frottis est enfin recouvert de fuchsine pendant 30 secondes, puis lavé à l'eau, séché au bec benzène.
- Examiner le frottis au microscope optique à l'objectif x 100 et à l'immersion à l'huile de cèdre [109].

#### c- Résultats

Après la coloration de Gram *Pseudomonas aeruginosa* apparaît sous forme de bacilles colorés en rose (à Gram négatif).

### 3-3- Isolement

L'isolement est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactériennes pures à partir d'un

## Matériels et méthodes

---

échantillon contaminée. 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, gélose Hektoen, gélose au sang cuit, gélose Chapman,...), un inoculum sous forme de stries à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée ou une anse de platine flambée.

- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

### ➤ Résultats

Le *P. aeruginosa* pousse sur la gélose nutritive, la gélose Hektoen et la gélose au sang cuit.

### 3-4- Tests biochimiques

#### 3-4-1- Test d'oxydase

##### a- Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme de la chaîne respiratoire: le cytochrome oxydase.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyl-paraphénylène-diamine. Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme il libère un composé violet.

##### b- Technique

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 imbibé d'eau placé sur une lame [107].

##### c- Lecture

La présence d'un cytochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette en 20 à 60 secondes.

##### d- Résultat

Le test de *P. aeruginosa* est oxydase positive.

### 3-4-2- Galerie biochimique

Après isolement et culture, nous avons réalisés la mini galerie classique pour mettre en évidence les caractères biochimiques de cette bactérie.

Les milieux d'identification suivants ont été utilisés :

- a- Milieu Triple Sugar Iron (TSI) (Annexe1)
- b- Milieu citrate de Simmons (Annexe2)
- c- Milieu mannitol mobilité (Annexe3)
- d- Milieu Clark et Lubs (Annexe4)
- e- Milieu urée-indole (Annexe4)

### 3-5- Antibiogramme

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

#### 3-5-1- Principe

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic de routine. Des disques de papier buvard, imprégnés d'ATB à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile ou avec des distributeurs à la surface d'un milieu gélosé Mueller-Hinton, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier [110].

#### 3-5-2- Technique

##### a- Réalisation d'une suspension

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, 4 à 5 colonies strictement identiques bien isolées sont prélevées à partir d'une culture de 18h à 24 h, qui est déchargée ensuite dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile, la suspension est homogénéisée tout en assurant que la densité est bien équivalente à 0,5 Mac Farland [110].

##### b- 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

## Matériels et méthodes

---

l'ensemencement est réalisé par frottement de l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de la boîte de pétrie.

Cette opération est répétée 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 [110].

### c- Application des disques

Les disques choisis sont posés à l'aide d'une paire de pinces stériles ou par des distributeurs. Ils 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 telle sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas. Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'ATB sur une boîte de 90 mm [110].

### d- Le choix des antibiotiques

Le choix s'effectue selon la bactérie étudiée, dans notre cas les ATB testés pour *P.aeruginosa* sont les suivants:

- **Bêtalactamines** : pipéracilline(PIP), ticarcilline(TIC), ticarcilline + acide clavulanique(TCC), imipénème(IPM), céftazidime(CAZ), aztréonam(ATM) ; céfepime.
- **Aminosides** : gentamicine(GEN), tobramycine(TOB), amikacine(AMK).
- **Quinolones** : ciprofloxacine(CIP).
- **Autres ATB** : fosfomycine(FOS), colistine(COL) [110].

### 3-5-3- Lecture

Après incubation à 37°C pendant 18-24 heures, des zones claires sont apparues autour des disques ayant des diamètres variables, ce sont des zones d'inhibition ou de sensibilité.

La lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'ATB à l'aide d'un pied à coulisse.

Les valeurs retrouvées sont comparées aux valeurs critiques reportées dans la table de lecture et les bactéries sont classées dans l'une des classes : **Sensible**, **Intermédiaire** ou **Résistante**.

Dans les mêmes conditions il faut utiliser des souches tests ATCC 27853 pour valider la technique.

**Troisième partie :**  
**Résultats et discussion**

## Résultats et discussion

### I- Résultat

L'étude s'est déroulée du 1er janvier 2020 au 31 août 2021. Il s'agit d'une étude rétrospective (du 1er janvier 2020 au 31 août 2021) et l'autre prospective durant 5 mois (du 1 janvier au 15 septembre 2021)

Durant notre étude, 20666 bactéries ont été isolées, dont 418 des *P. aeruginosa*, soit 2,02 %.

#### 1- Répartition selon l'unité

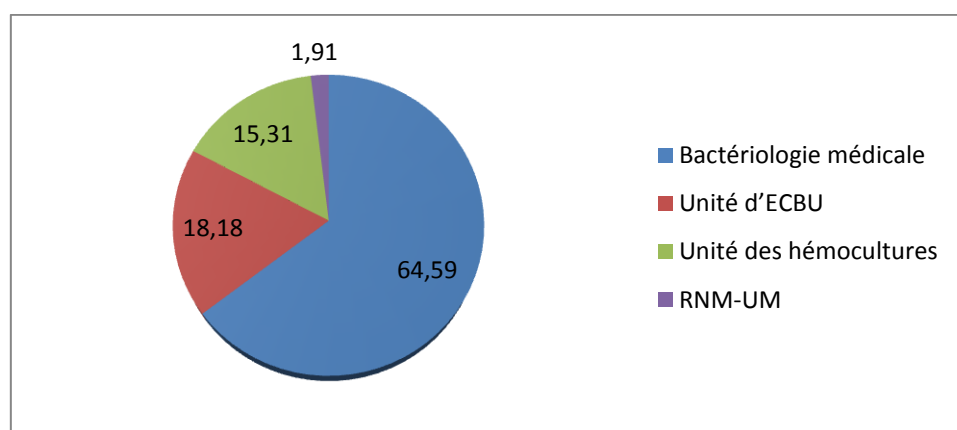
*P. aeruginosa* est isolé essentiellement au niveau de l'unité de bactériologie médicale **270(64,59%)** suivie par l'unité des ECBU : **76 (18,18%)**, les hémocultures: **64 (15,31%)** et la réanimation médicale : **8 (1,91%)** (Tableau 2, Figure 11).

**Tableau 2.** Répartition selon les unités

Unité	Nombre	Pourcentage %
Bactériologie médicale	270	64,59
Unité d'ECBU	76	18,18
Unité des hémocultures	64	15,31
RNM-UM	8	1,91
TOTAL	418	100

**ECBU:** Examen cyto bactériologique des urines

**RNM-UM:** Réanimation- urgences médicale



**Figure11.** Fréquence des souches isolées selon l'unité

## Résultats et discussion

### 1-1- En 2020

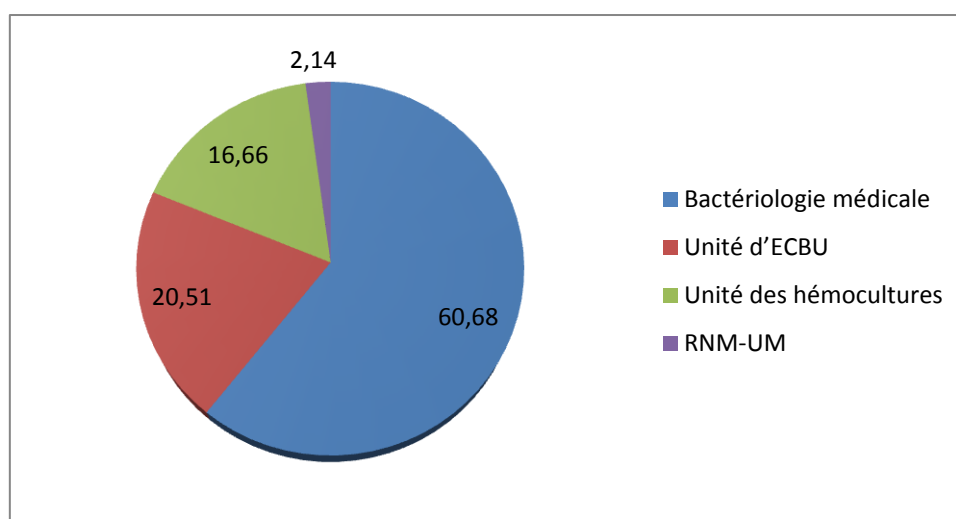
*P. aeruginosa* est isolé essentiellement au niveau de l'unité de bactériologie médicale : **142 (60,68%)** suivie par l'unité des ECBU : **48 (20,51%)**, les hémocultures: **39 (16,66%)** et la réanimation médicale : **5 (2,14%)** (Tableau 3, Figure 12).

**Tableau 3.** Répartition selon les unités (2020)

Unité	Nombre	Pourcentage %
Bactériologie médicale	142	60,68
Unité d'ECBU	48	20,51
Unité des hémocultures	39	16,66
RNM-UM	5	2,14
TOTAL	234	100

**ECBU:** Examen cyto bactériologique des urines

**RNM-UM:** Réanimation- urgences médicale



**Figure12.** Fréquence des souches isolées selon l'unité (2020)

## Résultats et discussion

### 1-2- En 2021

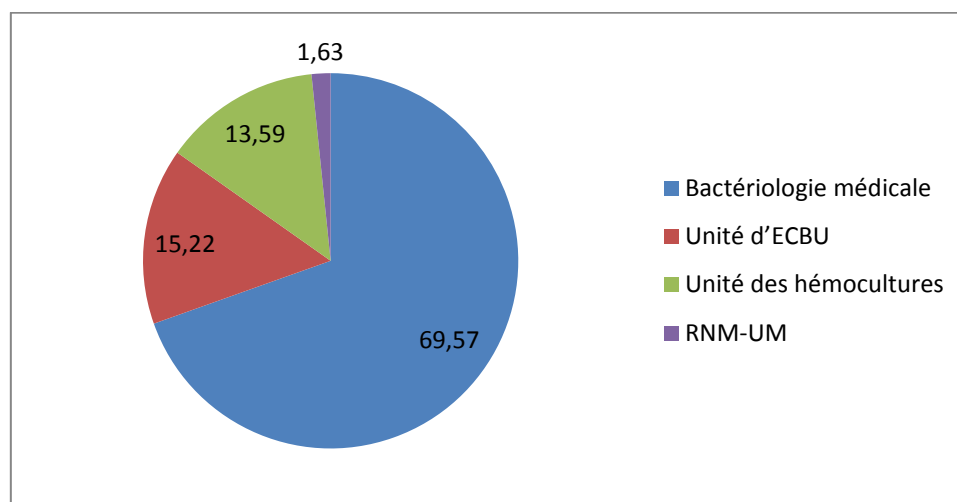
*P. aeruginosa* est isolé essentiellement au niveau de l'unité de bactériologie médicale : **128 (69,57%)** suivie par l'unité des ECBU : **28 (15,22%)**, les hémocultures: **25 (13,59%)** et la réanimation médicale : **3 (1,63%)** (Tableau 4, Figure 13).

**Tableau 4.** Répartition selon les unités (2021)

Unité	Nombre	Pourcentage %
Bactériologie médicale	128	69,57
Unité d'ECBU	28	15,22
Unité des hémocultures	25	13,59
RNM-UM	3	1,63
TOTAL	184	100

**ECBU:** Examen cyto bactériologique des urines

**RNM-UM:** Réanimation- urgences médicale



**Figure13.** Fréquence des souches isolées selon l'unité (2021)

### 2- Répartition selon le sexe

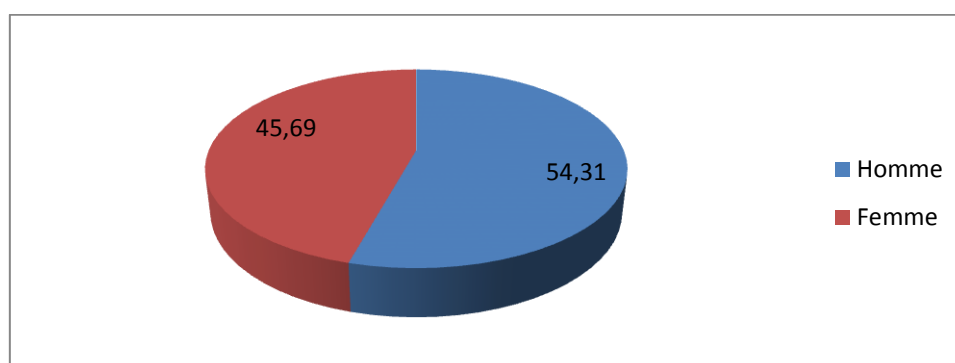
Le taux de positivité chez l'homme (**54,31 %**) est supérieur à celui retrouvé chez la femme (**45,69 %**) (tableau5, Figure 14). Le sex-ratio M/F est égal à 1,19.



## Résultats et discussion

**Tableau5.** Répartition selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage%
Homme	227	54,31
Femme	191	45,69
Total	418	100



**Figure14.** Fréquence des souches isolées selon le sexe

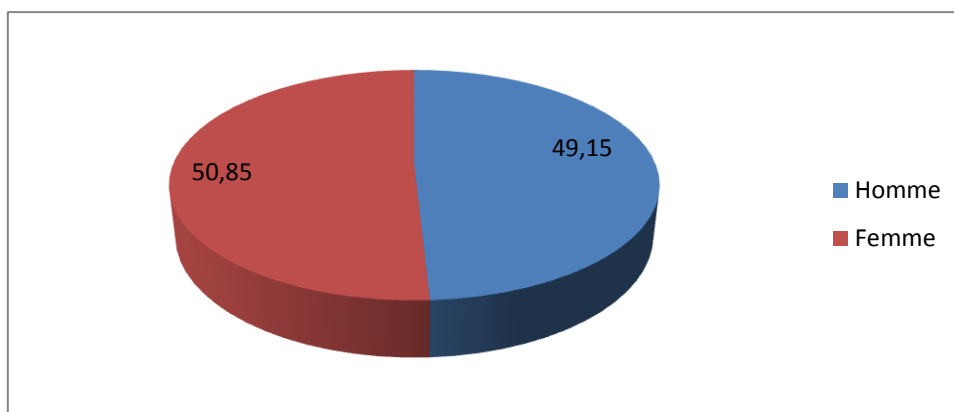
### 2-1- En 2020

Le taux de positivité chez l'homme (**49,15 %**) est inférieur à celui retrouvé chez la femme (**50,85%**) (**tableau6, Figure 15**). Le sex-ratio M/F est égal à 0,97.

**Tableau6.** Répartition selon le sexe (2020)

Sexe	Nombre	Pourcentage %
Homme	115	49,15
Femme	119	50,85
Total	234	100

## Résultats et discussion



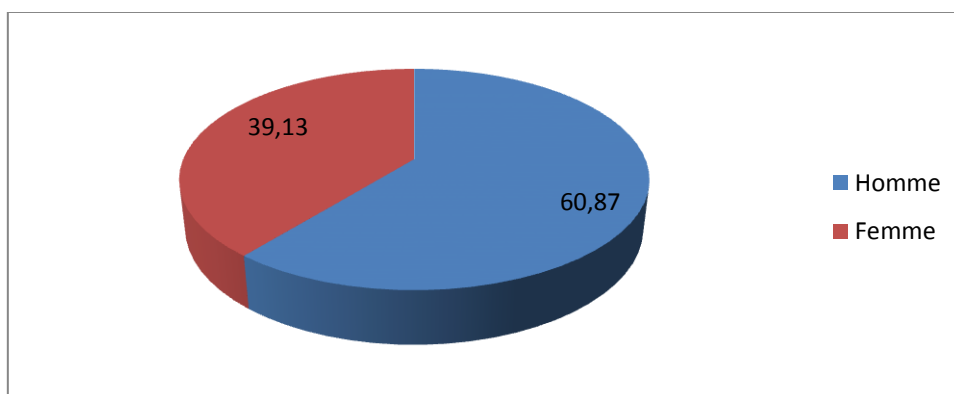
**Figure15.** Fréquence des souches isolées selon le sexe(2020)

### 2-2- En 2021

Le taux de positivité chez l'homme (**60,87 %**) est supérieur à celui retrouvé chez la femme (**39,13 %**) (**tableau7, Figure 16**), Le sex-ratio M/F est égal à 1,55.

**Tableau7.** Répartition selon le sexe (2021)

Sexe	Nombre	Pourcentage%
Homme	112	60,87
Femme	72	39,13
Total	184	100



**Figure16.** Fréquence des souches isolées selon le sexe(2021)

## Résultats et discussion

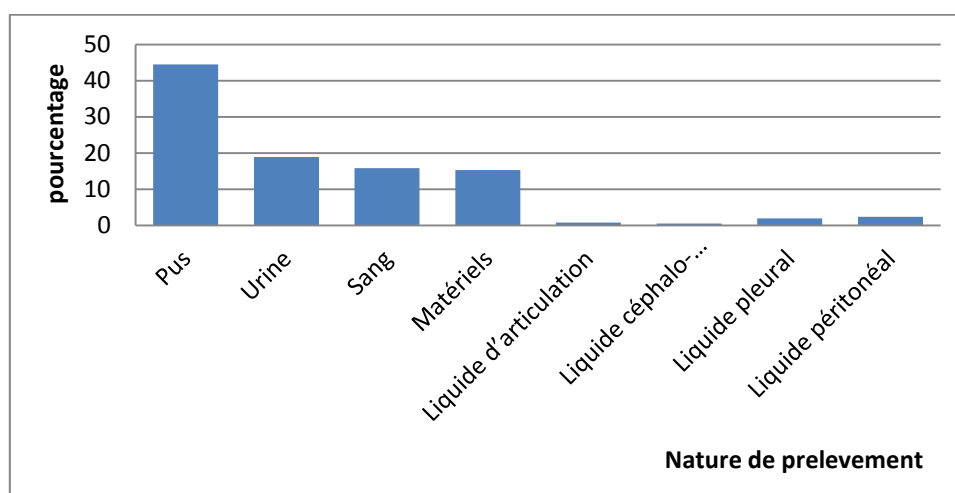
### 3- Répartition selon la nature du prélèvement

#### a- Selon la nature du prélèvement

Dans notre étude *P. aeruginosa* est isolé essentiellement dans les pus avec 186 cas (**44,5 %**), suivis des urines avec 79 cas (**18,9 %**), du sang avec 66 cas (**15,79 %**) (**tableau8, Figure 17**).

**Tableau8.** Répartition selon la nature du prélèvement

Prélèvement	Nombre	Pourcentage%
Pus	186	44,5
Urine	79	18,9
Sang	66	15,79
Matériels	64	15,31
Liquide d'articulation	3	0,72
Liquide céphalo-rachidien	2	0,48
Liquide pleural	8	1,91
Liquide péritonéal	10	2,39
Total	418	100



**Figure17.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement

## Résultats et discussion

### a- Matériel utilisés dans les prélèvements

Le matériel utilisé dans les différents prélèvements est :

**Tableau9.** Matériel utilisés dans les prélèvements

Matériel	Nombre	Pourcentage%
Sonde urinaire	16	25
Sonde vésicale	26	40,63
Drain	8	12,5
Drain thoracique	2	3,13
Cathéter	3	4,69
Cathéter centrale	3	4,69
ECB du matériel	3	4,69
Prélèvement trachéale	3	4,69
Total	64	100

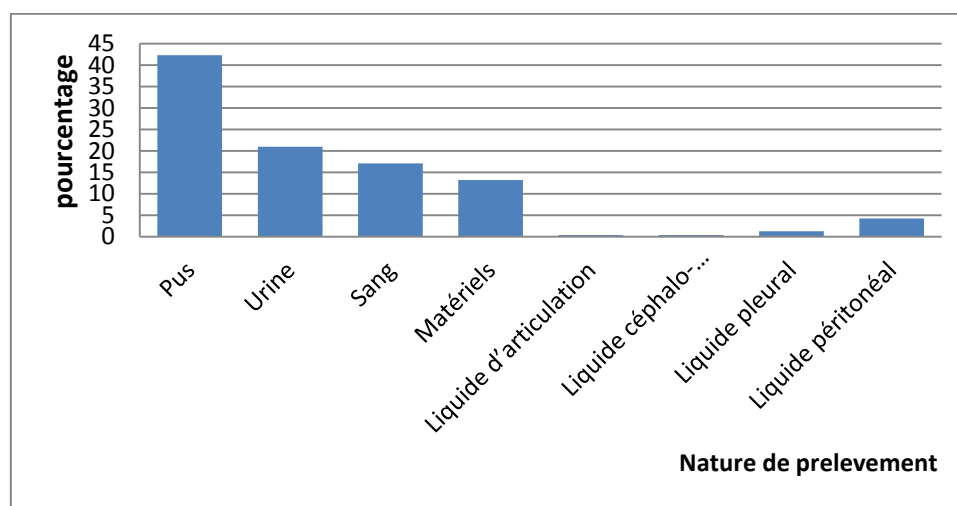
### 3-1- En 2020

Dans notre étude *P. aeruginosa* est isolé essentiellement en 2020 dans les pus avec 99 cas (**42,31** %), suivis des urines avec 49 cas (**20,94** %), du sang avec 40 cas (**17,09** %) (**tableau10, Figure 18**).

## Résultats et discussion

**Tableau10.** Répartition selon la nature du prélèvement (2020)

Prélèvement	Nombre	Pourcentage %
Pus	99	42,31
Urine	49	20,94
Sang	40	17,09
Matériels	31	13,25
Liquide d'articulation	1	0,43
Liquide céphalo-rachidien	1	0,43
Liquide pleural	3	1,28
Liquide péritonéal	10	4,27
Total	234	100



**Figure18.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement (2020)

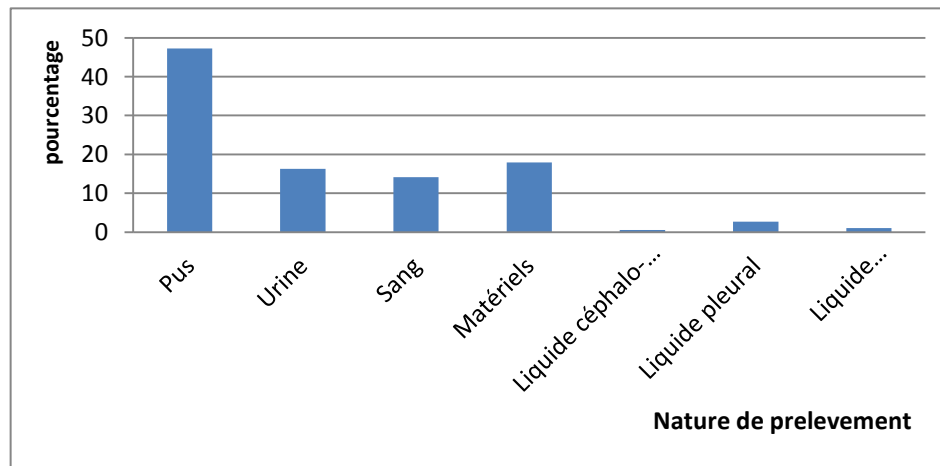
### 3-2- En 2021

En 2021, *P. aeruginosa* est isolé essentiellement dans les pus avec 85 cas (**46,2 %**), suivis des matériels (sonde urinaire, cathéter et des prelevement tranchéaux,...) avec 33 cas (**17,93%**), des urines avec 30 cas (**16,3 %**), du sang avec 26 cas (**14,13%**) (**tableau11, Figure 19**).

## Résultats et discussion

**Tableau11.** Répartition selon la nature du prélèvement (2021)

Prélèvement	Nombre	Pourcentage%
Pus	87	47,28
Urine	30	16,3
Sang	26	14,13
Matériels	33	17,93
Liquide céphalo-rachidien	1	0,54
Liquide pleural	5	2,72
Liquide d'articulation	2	1,09
Total	184	100



**Figure19.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement (2021)

#### 4- Répartition selon le service

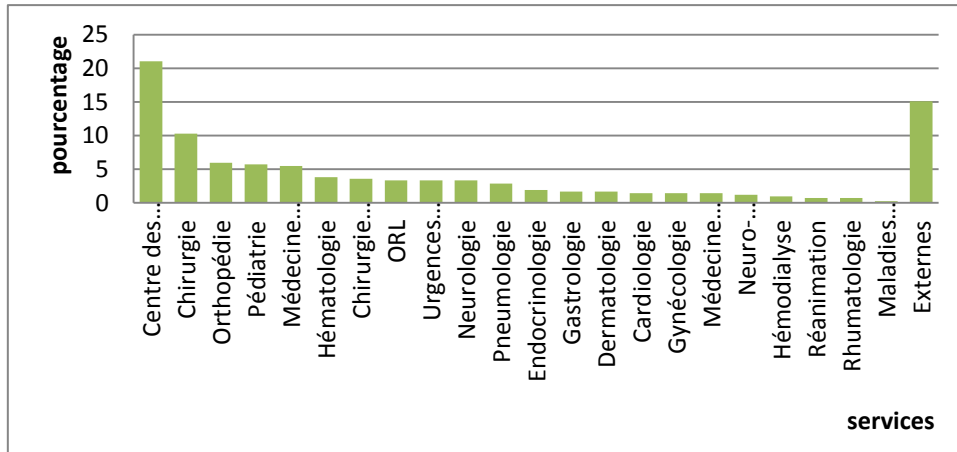
La plupart des services de CHUC sont représentés. Les souches proviennent essentiellement du centre des brûlés avec 88 cas (**21,05%**), suivi par les externes avec 63 cas (**15,07%**), et la chirurgie avec 43 cas (**10,29%**) (**Tableau12, Figure 20**).

## Résultats et discussion

**Tableau12.** Répartition selon le service

Service	Nombre	Pourcentage%
Centre des brulés	88	21,05
Chirurgie	43	10,29
Orthopédie	25	5,98
Pédiatrie	24	5,74
Médecine interne	23	5,5
Hématologie	16	3,83
Chirurgie thoracique	15	3,59
ORL	14	3,35
Urgences médicales	14	3,35
Neurologie	14	3,35
Pneumologie	12	2,87
Endocrinologie	8	1,91
Gastrologie	7	1,67
Dermatologie	7	1,67
Cardiologie	6	1,44
Gynécologie	6	1,44
Médecine légale	6	1,44
Neuro-chirurgicale	5	1,2
Hémodialyse	4	0,96
Réanimation	3	0,72
Rhumatologie	3	0,72
Maladies infectieuses	1	0,24
Externes	63	15,07
Total	418	100

## Résultats et discussion



**Figure 20.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services

### 4-1- En 2020

Les souches proviennent essentiellement du centre des brûlés avec 49 cas (**22,94%**), suivi par les externes avec 35 cas (**14,96%**), et la chirurgie et médecine interne avec 23 cas (**9,83%**) (**Tableau 13, Figure 21**).

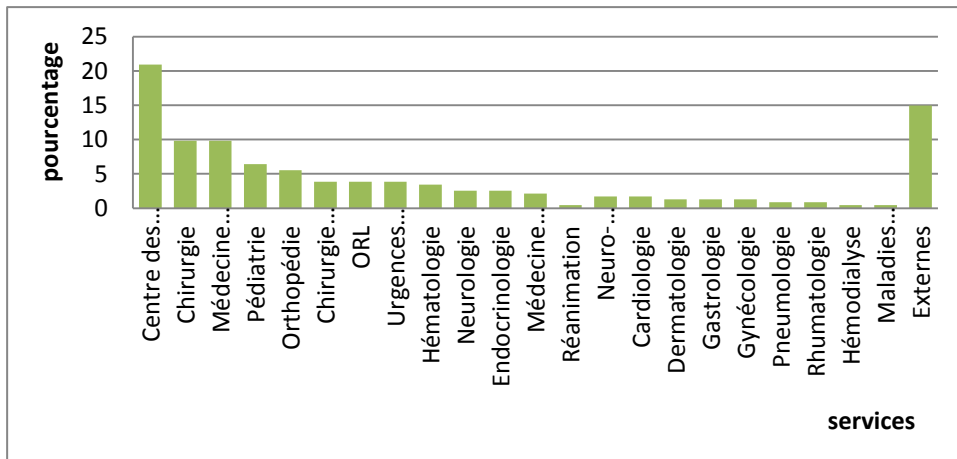


## Résultats et discussion

**Tableau13.** Répartition selon le service (2020)

Service	Nombre	Pourcentage%
Centre des brûlés	49	20,94
Chirurgie	23	9,83
Médecine interne	23	9,83
Pédiatrie	15	6,41
Orthopédie	13	5,55
Chirurgie thoracique	9	3,84
ORL	9	3,84
Urgences médicales	9	3,84
Hématologie	8	3,42
Neurologie	6	2,56
Endocrinologie	6	2,56
Médecine légale	5	2,14
Réanimation	1	0,43
Neuro-chirurgicale	4	1,71
Cardiologie	4	1,71
Dermatologie	3	1,28
Gastrologie	3	1,28
Gynécologie	3	1,28
Pneumologie	2	0,85
Rhumatologie	2	0,85
Hémodialyse	1	0,43
Maladies infectieuses	1	0,43
Externes	35	14,96
Total	234	100

## Résultats et discussion



**Figure 21.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services (2020)

### 4-2- En 2021

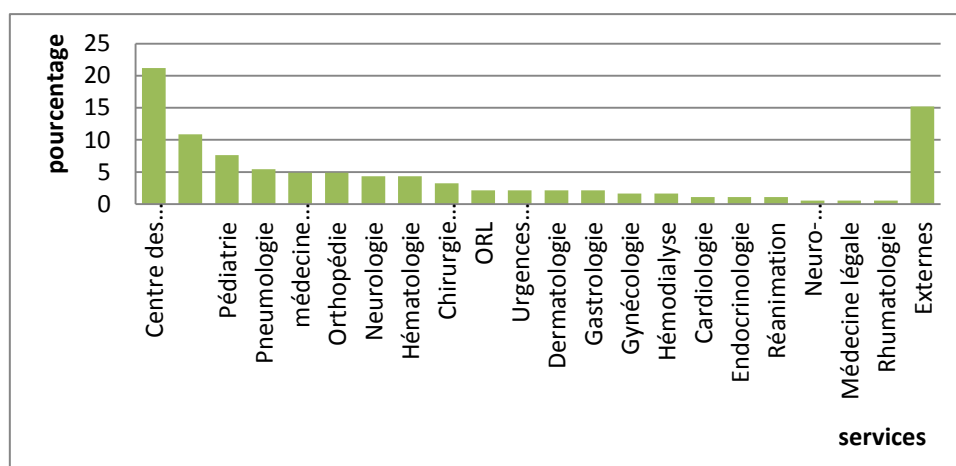
Les souches proviennent essentiellement du centre des brûlés 39 cas (**21,2 %**), suivi par les externes 28 cas (**15,22 %**) et la chirurgie 20 cas (**10,87 %**) (**Tableau14, Figure 22**)

## Résultats et discussion

**Tableau 14.** Répartition selon le service (2021)

Service	Total	Pourcentage%
Centre des brûlés	39	21,2
Chirurgie vésicale	20	10,87
Pédiatrie	14	7,61
Pneumologie	10	5,43
médecine interne	9	4,89
Orthopédie	9	4,89
Neurologie	8	4,35
Hématologie	8	4,35
Chirurgie thoracique	6	3,26
ORL	5	2,17
Urgences médicales	5	2,17
Dermatologie	4	2,17
Gastrologie	4	2,17
Gynécologie	3	1,63
Hémodialyse	3	1,63
Cardiologie	2	1,09
Endocrinologie	2	1,09
Réanimation	2	1,09
Neuro-chirurgicale	1	0,54
Médecine légale	1	0,54
Rhumatologie	1	0,54
Externes	28	15,22
Total	184	100

## Résultats et discussion



**Figure22.** Pourcentage de la répartition des souches isolées selon les services (2021)

### 5- Répartition selon la nature du prélèvement et le service

La majorité des prélèvements ayant fait l'objet d'isolement de *P.aeruginosa* se retrouve au niveau des services de centre des brûlés **88 cas**, chirurgie **43 cas**, externes **63 cas**, médecine interne **32 cas**, pédiatrie **30 cas** et orthopédie **21 cas**.

Cette bactérie est isolée essentiellement au niveau des pus dans la moitié des services représentés **184 cas**, et elle est prédominante dans le service des externes avec **36 cas**, la chirurgie **22 cas**, et médecine interne avec **21 cas**.

En ce qui concerne l'isolement du germe dans les urines, la majorité des services sont représentés mais à moindre degré que les pus : **19 cas** au centre des brûlés, **22 cas** au externes, **9 cas** en neurologie et **5 cas** en médecine interne.

Pour le sang, nous remarquons que le service de centre des brûlés prédomine avec **34 cas** et **9 cas** en pédiatrie (**Tableau15**).

## Résultats et discussion

**Tableau15.** Répartition de *P. aeruginosa* selon les services et la nature de prélèvement

Nature de prélèvement  Services	Pus	Urine	Sang	Matériels	LCR	Liquide pleural	Liquide d'articulation	Liquide péritonéal	Total
	Réanimation		1	2					
Centre des brûlés	4	19	34	21					88
Chirurgie vésicale	22	2	6	6			1	6	43
Neuro-chirurgicale	1		1	2	1				5
Chirurgie thoracique	10	1		2		2			15
Cardiologie	4	2							6
Dermatologie	6		1						7
Endocrinologie	5	3							8
Gastrologie	1	3	2					1	7
Gynécologie	6								6
Hématologie	7	2	3	4					16
Hémodialyse		1	3						4
Médecine interne	21	5	2	4					32
Médecine légale	1	1				2		2	6
Maladies infectieuses	1								1
Neurologie	4	9	1						14
ORL	12			1			1		14
Orthopédie	18			2		1			21
Pédiatrie	16	3	9	1	1				30
Pneumologie	1	2		5		4			12
Rhumatologie	1	2							3
Urgences médicales	7	1	2	2				2	14
Externes	36	22		4			1		63
Total	186	79	66	64	2	8	3	10	418

## Résultats et discussion

---

### 5-1- En 2020

La majorité des prélèvements se retrouve au niveau de centre des brûlés **49 cas**, chirurgie **23 cas**, externes **35 cas**, médecine interne **23 cas**, pédiatrie **16 cas** et orthopédie **12 cas**.

Cette bactérie est isolée essentiellement au niveau des pus dans la moitié des services représentés **99 cas**, et elle est prédominante dans le service des externes avec **17 cas**, médecine interne avec **15 cas**, et la chirurgie **9 cas**.

En ce qui concerne l'isolement du germe dans les urines, la majorité des services sont représentés mais à moindre degré que les pus : **22 cas** au externes, **19 cas** au centre des brûlés, **9 cas** en neurologie et **5 cas** en médecine interne.

Pour le sang, nous remarquons que le service de centre des brûlés prédomine avec **27 cas** et **5 cas** en pédiatrie (**Tableau16**).

## Résultats et discussion

**Tableau16.** Répartition de *P. aeruginosa* selon les services et la nature de prélèvement (2020)

Nature de prélèvement  Services	Pus	Urine	Sang	Matériels	LCR	Liquide pleural	Liquide d'articulation	Liquide péritonéal	Total
	Réanimation		1						
Centre des brûlés	1	10	27	11					49
Chirurgie vésicale	9	2	3	3				6	23
Neuro-chirurgicale	1		1	2					4
Chirurgie thoracique	7	1				1			9
Cardiologie	2	2							4
Dermatologie	3								3
Endocrinologie	4	2							6
Gastrologie	1	2							3
Gynécologie	3								3
Hématologie	2	1	3	2					8
Hémodialyse		1							1
Médecine interne	15	4		4					23
Médecine légale	1					2		2	5
Maladies infectieuses	1								1
Neurologie	2	4							6
ORL	8			1					9
Orthopédie	11			1					12
Pédiatrie	6	3	5	1	1				16
Pneumologie		1		1					2
Rhumatologie		2							2
Urgences médicales	5		1	1				2	9
Externes	17	13		4			1		35
Total	99	49	40	31	1	3	1	10	234

## Résultats et discussion

---

### 5-2- En 2021

La majorité des prélèvements se retrouve au niveau de centre des brûlés **39 cas**, chirurgie **27 cas**, externes **35 cas**, chirurgie vésicale **20 cas**, pédiatrie **14 cas** et pneumologie **10 cas**.

Cette bactérie est isolée essentiellement au niveau des pus dans la moitié des services représentés **87 cas**, et elle est prédominante dans le service des externes avec **18 cas**, la chirurgie **14 cas** et pédiatrie avec **15 cas**.

En ce qui concerne l'isolement du germe dans les urines, la majorité des services sont représentés mais à moindre degré que les pus : **9 cas** au externes et centre des brûlés, **5 cas** en neurologie.

Pour le sang, nous remarquons que le service de centre des brûlés prédomine avec **7 cas** et **4 cas** en pédiatrie(**Tableau17**).



## Résultats et discussion

**Tableau17.** Répartition de *P. aeruginosa* selon les services et la nature de prélèvement(2021)

Nature de prélèvement  Services	Pus	Urine	Sang	Matériels	LCR	Liquide pleural	Liquide d'articulation	Total
	Réanimation			2				
Centre des brûlés	3	9	7	20				39
Chirurgie vésicale	14		3	3				20
Neuro-chirurgicale					1			1
Chirurgie thoracique	3			2		1		6
Cardiologie	2							2
Dermatologie	3		1					4
Endocrinologie	1	1						2
Gastrologie		1	2				1	4
Gynécologie	3							3
Hématologie	5	1		2				8
Hémodialyse			3					3
Médecine interne	6	1	2					9
Médecine légale		1						1
Neurologie	2	5	1					8
ORL	5							5
Orthopédie	7			1			1	9
Pédiatrie	10		4					14
Pneumologie	1	1		4		4		10
Rhumatologie	1							1
Urgences médicales	2	1	1	1				5
Externes	18	9						27
Total	87	30	26	33	1	5	2	184

## Résultats et discussion

### 6- Répartition selon les mois

#### 6-1- En 2020

*P.aeruginosa* a été isolé durant toute l'année 2020. Il existe 1 seul pic : en février (**42 prélèvements**). Le taux le plus faible a été observé en avril (**7 prélèvements**) (**Tableau18, Figure 23**).

**Tableau18.** Répartition de souches positives de *P.aeruginosa* en fonction de mois (2020)

Mois	Nombre	Pourcentage%
Janvier	33	14,18
Février	42	18,09
Mars	29	12,41
Avril	7	2,84
Mai	16	6,74
Juin	9	3,9
Juillet	8	3,55
Aout	17	7,09
Septembre	16	6,74
Octobre	19	8,16
Novembre	18	7,8
Décembre	20	8,51
Total	234	100

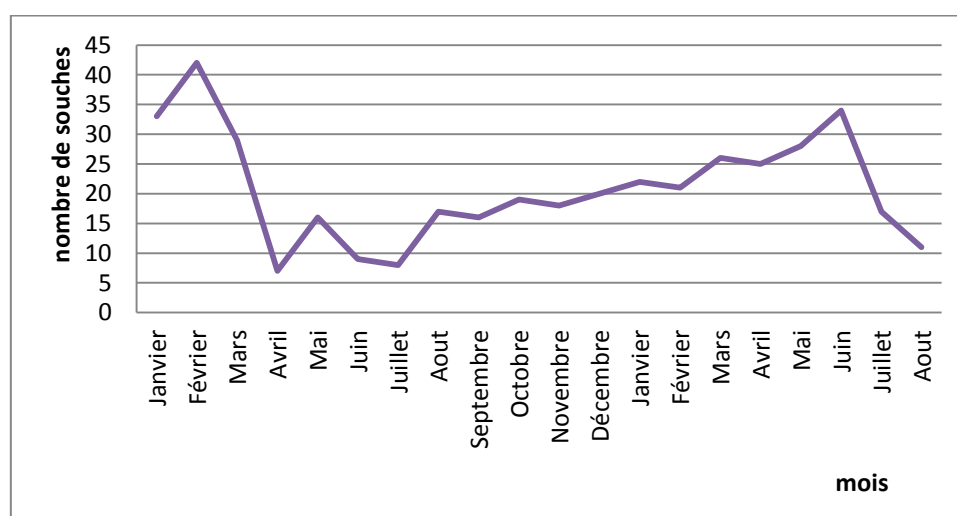
#### 6-2- En 2021

*P.aeruginosa* a été isolé durant les 8 mois de l'année 2021. Il existe 1 seul pic : en juin (**34 prélèvements**). Le taux la plus faible a été observé en aout (**11 prélèvements**) (**Tableau19, Figure 23**).

## Résultats et discussion

**Tableau19.** Répartition de souches positives de *P.aeruginosa* en fonction de mois(2021)

Mois	Nombre	Pourcentage%
Janvier	22	11.96
Février	21	11.41
Mars	26	14.13
Avril	25	13.59
Mai	28	15.22
Juin	34	18.48
Juillet	17	9.24
Aout	11	5.98
Total	184	100



**Figure 23.** Répartition mensuelle des souches isolées (2020-2021)

### 7- Répartition des germes associés à *P. aeruginosa*

Durant notre étude, nous avons noté que *Pseudomonas aeruginosa* a été associé à **113 fois** à d'autres bactéries.

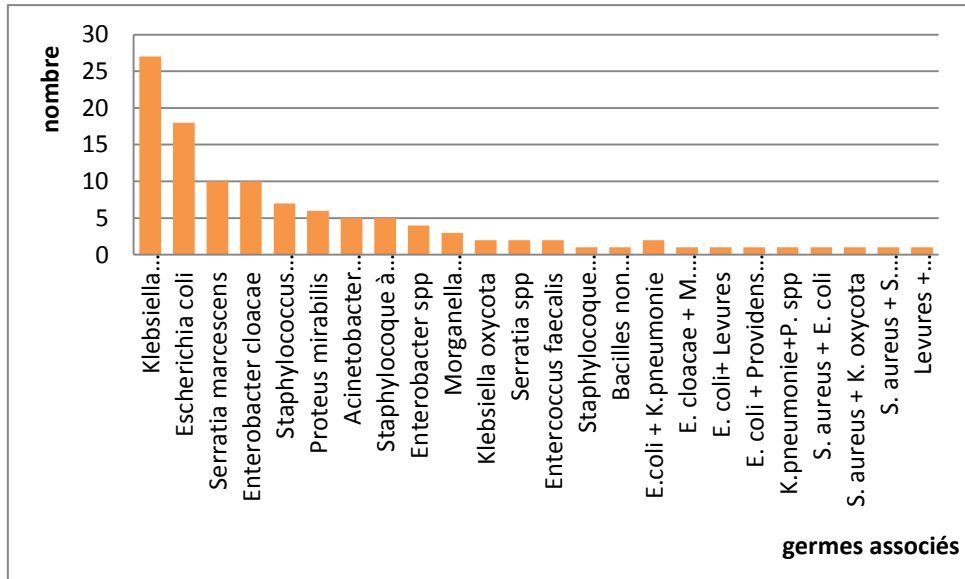
Nous notons que dans la plupart des cas, ce germe est associé essentiellement aux entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* (**23,48%**), *Escherichia coli* (**15,93%**), *Enterobacter cloacae* (**8,7 %**)) (Tableau 20, Figure 24).

## Résultats et discussion

**Tableau 20.** Répartition des germes associés à *P. aeruginosa*

	Germes associés	Nombre	Pourcentage%
<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (103 cas)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	23,48
	<i>Escherichia coli</i>	18	15,93
	<i>Serratia marcescens</i>	10	8,7
	<i>Enterobacter cloacae</i>	10	8,7
	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	6,09
	<i>Proteus mirabilis</i>	6	5,22
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	4,35
	Staphylocoque à cogulase négative (SCN)	5	4,35
	<i>Enterobacter</i> spp	4	3,48
	<i>Morganella morganii</i>	3	2,61
	<i>Klebsiella oxycota</i>	2	1,74
	<i>Serratia</i> spp	2	1,74
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2	1,74
	Staphylocoque hémolytique	1	0,87
	Bacilles non fermentaires	1	0,87
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (10 cas)	E.coli + K.pneumonie	2	1,74
	E. cloacae + M. moranii	1	0,87
	E. coli+ Levures	1	0,87
	E. coli + <i>Providens</i> spp	1	0,87
	K.pneumonie+P. spp	1	0,87
	S. aureus + E. coli	1	0,87
	S. aureus + K. oxycota	1	0,87
	S. aureus + S. marcescens	1	0,87
	Levures + K.pneumonie	1	0,87
Total	113	100	

## Résultats et discussion



**Figure 24.** Nombre des germes associés à *P. aeruginosa*

### 7-1- En 2020

Nous avons noté que *Pseudomonas aeruginosa* a été associé à **72 fois** à d'autres bactéries. en 2020.

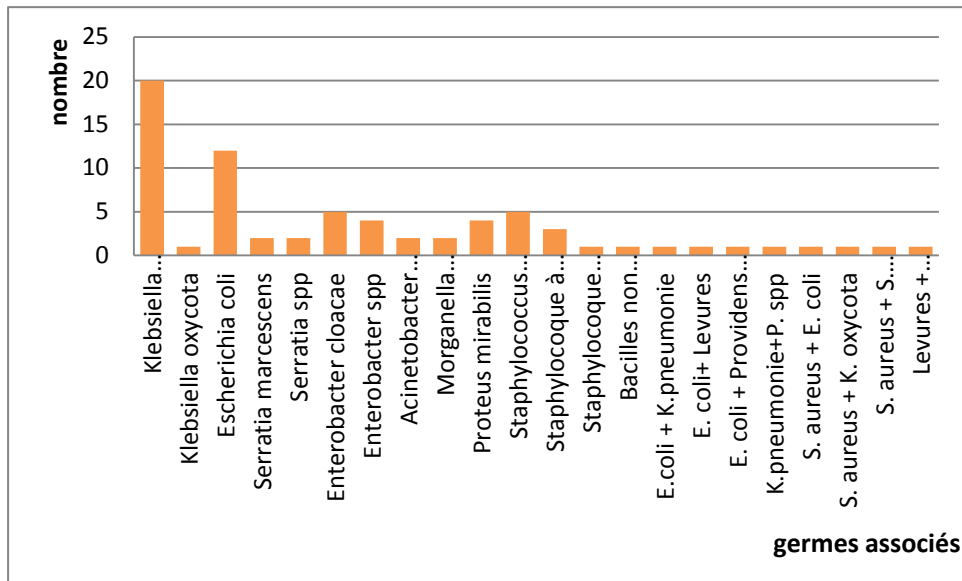
Nous notons que dans la plupart des cas, ce germe est associé essentiellement aux entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* (**27,03%**), *Escherichia coli* (**16,66%**), *Enterobacter cloacae* (**6,76 %**)) (**Tableau 21, Figure 25**)

## Résultats et discussion

**Tableau 21.** Répartition des germes associés à *P. aeruginosa* (2020)

	Germes associés	Nombre	Pourcentage %
<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (64 cas)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	27,03
	<i>Klebsiella oxycota</i>	1	1,35
	<i>Escherichia coli</i>	12	16,66
	<i>Serratia marcescens</i>	2	2,7
	<i>Serratia spp</i>	2	2,7
	<i>Enterobacter cloacae</i>	5	6,76
	<i>Enterobacter spp</i>	4	5,41
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	2,7
	<i>Morganella morganii</i>	2	2,7
	<i>Proteus mirabilis</i>	4	5,41
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	6,76
	Staphylocoque à coagulase négative (SCN)	3	4,05
	Staphylocoque hémolytique	1	1,35
Bacilles non fermentaires	1	1,35	
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (8 cas)	E.coli + K.pneumonie	1	1,35
	E. coli+ Levures	1	1,35
	E. coli + <i>Providens spp</i>	1	1,35
	K.pneumonie+ <i>P. spp</i>	1	1,35
	<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>	1	1,35
	<i>S. aureus</i> + <i>K. oxycota</i>	1	1,35
	<i>S. aureus</i> + <i>S. marcescens</i>	1	1,35
	Levures + K.pneumonie	1	1,35
Total	72	100	

## Résultats et discussion



**Figure 25.** Nombre des germes associés à *P. aeruginosa* (2020)

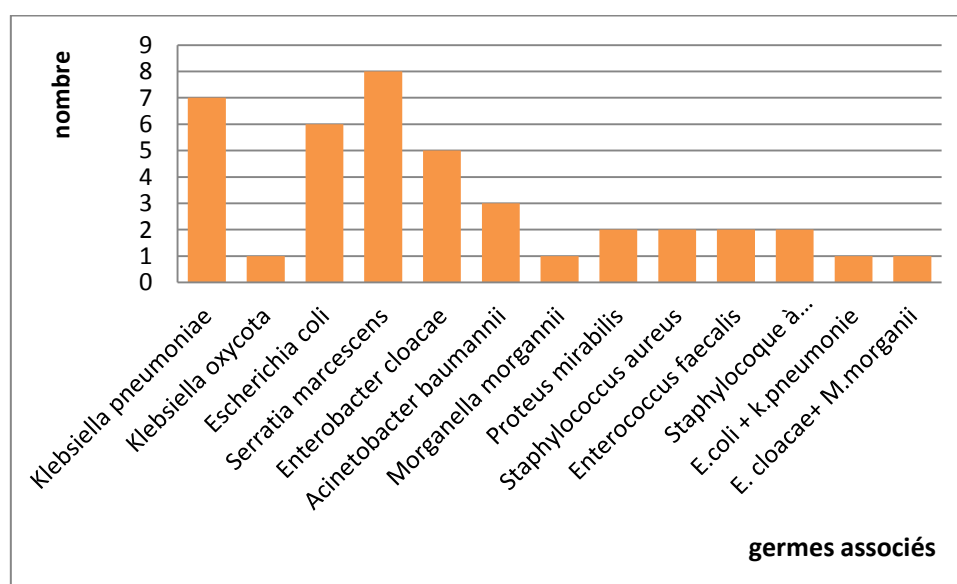
### 7-2- En 2021

*P. aeruginosa* est associé à 41 fois à d'autres bactéries essentiellement à *Serratia marcescens* 19.51 % aux entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* (17,07 %), *Escherichia coli* (14,63%), *Enterobacter cloacae* (6,76 %)) (Tableau 22, Figure 26)

## Résultats et discussion

**Tableau 22.** Répartition des germes associés à *P. aeruginosa* (2021)

	Germes associés	Nombre	Pourcentage%
<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (39 cas)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	17,07
	<i>Klebsiella oxycota</i>	1	2,44
	<i>Escherichia coli</i>	6	14,63
	<i>Serratia marcescens</i>	8	19,51
	<i>Enterobacter cloacae</i>	5	12,2
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	7,32
	<i>Morganella morganii</i>	1	2,44
	<i>Proteus mirabilis</i>	2	4,88
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	4,88
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2	4,88
	Staphylocoque à coagulase négative (SCN)	2	4,88
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (2 cas)	E.coli + k.pneumonie	1	2,44
	E. cloacae+ M.morganii	1	2,44
	Total	41	100



**Figure 26.** Nombre des germes associés à *P. aeruginosa* (2021)



### 8- Répartition de *P. aeruginosa* selon les germes associés et la nature de prélèvement

*P. aeruginosa* s'associer essentiellement avec *Klebsiella pneumoniae* **27 cas**, *Escherichia coli* **18 cas**, *Enterobacter cloacae* et *Serratia marcescens* **10 cas**.

Ces associations sont isolées essentiellement au niveau des pus dans la moitié des cas : **63cas**, et elle est prédominante avec *k.pneumonie* **18 cas**, suivi *Escherichia coli* **12 cas** et *Serratia marcescens* **8 cas**.

En ce qui concerne l'isolement des germes associés dans les urines, la majorité sont associés à *Staphylocoque* à *coagulase négative* **4 cas**.

Pour le sang, nous remarquons que l'association à *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* **2 cas** (**Tableau23**).

## Résultats et discussion

**Tableau23.** Répartition de *P. aeruginosa* les germes associés et la nature de prélèvement

Nature de prélèvement Germes associés		Pus	Sang	Urine	Matériels	Liquide pleural	Liquide péritonéal	Total
		<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (103 cas)	Klebsiella pneumoniae	18		1	6	
Escherichia coli	12		2	2	1	1		18
Serratia marcescens	8					2		10
Serratia spp	2							2
Enterobacter cloacae	7		1	1	1			10
Enterobacter spp	2				2			4
Acinetobacter baumannii			2		3			5
Morganella morgannii	3							3
Proteus mirabilis			1	2	2	1		6
Staphylococcus aureus	3		3		1			7
Enterococcus faecalis	1			1				2
Staphylocoque à coagulase négative (SCN)			4		1			5
Staphylocoque hémolytique	1							1
Bacilles non fermentaires					1			1
klebsiella oxycota			2					2
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (10 cas)	E.coli + K.pneumonie	2						2
	E. coli+ Levures				1			1
	E. coli + Providens spp	1						1
	K.pneumonie+P. spp					1		1
	S. aureus + E. coli	1						1
	S. aureus + K. oxycota						1	1
	S. aureus + S. marcescens	1						1
	Levures + K.pneumonie				1			1
	E. cloacae+ M. morganii	1						1
Total	63	15	7	20	5	3	113	

## Résultats et discussion

---

### 8-1- En 2020

*P. aeruginosa* s'associer essentiellement avec *Klebsiella pneumoniae* **20 cas**, *Escherichia coli* **12 cas**, *Enterobacter cloacae* et *Staphylococcus aureus* **5 cas**.

Ces associations sont isolées essentiellement au niveau des pus dans la moitié des cas : **38 cas**, et elle est prédominante avec *Klebsiella pneumoniae* **11 cas**, suivi *Escherichia coli* **9 cas** et *Enterobacter cloacae* **4 cas**.

En ce qui concerne l'isolement des germes associés dans les urines, sont associés à *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis* **1 cas**.

Pour le sang, nous remarquons que l'association à *Staphylocoque à coagulase négative* **3 cas** et *Staphylococcus aureus* **2 cas**(Tableau24).

## Résultats et discussion

**Tableau24.** Répartition de *P. aeruginosa* les germes associés et la nature de prélèvement (2020)

Nature de prélèvement Germes associés		Pus	Sang	Urine	Matériels	Liquide pleural	Liquide péritonéal	Total
		<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (64 cas)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11		1	6	
<i>Escherichia coli</i>	9		1	1	1			12
<i>Serratia marcescens</i>	1					1		2
<i>Serratia spp</i>	2							2
<i>Enterobacter cloacae</i>	4			1				5
<i>Enterobacter spp</i>	2				2			4
<i>Acinetobacter baumannii</i>					2			2
<i>Morganella morgannii</i>	2							2
<i>Proteus mirabilis</i>			1	1	1	1		4
<i>Staphylococcus aureus</i>	2		2		1			5
<i>Enterococcus faecalis</i>								0
Staphylocoque à coagulase négative (SCN)			3					3
Staphylocoque hémolytique	1							1
Bacilles non fermentaires					1			1
<i>klebsiella oxycota</i>			1					1
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (8 cas)	E.coli + K.pneumonie	1						1
	E. coli+ Levures				1			1
	E. coli + <i>Providens spp</i>	1						1
	K.pneumonie+P. spp					1		1
	S. aureus + E. coli	1						1
	S. aureus + K. oxycota						1	1
	S. aureus + S. marcescens	1						1
	Levures + K.pneumonie				1			1
Total	38	8	4	16	3	3	72	

## Résultats et discussion

---

### 8-2- En 2021

*P. aeruginosa* s'associer essentiellement avec *Serratia marcescens* **8 cas**, *Klebsiella pneumoniae* **7 cas** et *Escherichia coli* **6 cas**.

Ces associations sont isolées essentiellement au niveau des pus dans la moitié des cas : **25 cas**, et elle est prédominante avec *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens* **7 cas**, suivi *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* **3 cas**.

En ce qui concerne l'isolement des germes associés dans les urines, sont associés à *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Proteus mirabilis* **1 cas**.

Pour le sang, nous remarquons que l'association à *Acinetobacter baumannii* **2 cas** et *Staphylococcus aureus* **2 cas** (Tableau25).

## Résultats et discussion

**Tableau25.** Répartition des germes associés à *P. aeruginosa* et la nature de prélèvement (2021)

Nature de prélèvement		Pus	Sang	Urine	Matériels	Liquide pleural	Total
<i>P. aeruginosa</i> associée à 1 germe (39 cas)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7					7
	<i>Escherichia coli</i>	3	1	1		1	6
	<i>Serratia marcescens</i>	7				1	8
	<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1		1		5
	<i>Acinetobacter baumannii</i>		2		1		3
	<i>Morganella morganii</i>	1					1
	<i>Proteus mirabilis</i>			1	1		2
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1				2
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1		1			2
	Staphylocoque a cougulase negative (SCN)		1		1		2
	<i>k. oxycota</i>		1				1
<i>P. aeruginosa</i> associée à 2 germes (2 cas)	<i>E.coli</i> + <i>k.pneumonie</i>	1					1
	<i>E. cloacae</i> + <i>M.morganii</i>	1					1
Total		25	7	3	4	2	41

### 9- Résistance aux ATB

Nos isolats se sont révélés résistants à de nombreux ATB, concernant les  $\beta$ -lactamines: (**62,72%**) à la ticarcilline, (**60,95%**) à la piperacilline et (**24,01%**) à la céfépime et (**22,71%**) à la ceftazidime. De plus, (**23,82%**) sont résistants à l'imipénème.

Pour les aminosides, les taux de résistance sont de (**37,59%**) pour la gentamicine et (**24,14%**) pour l'amikacine, des souches sont résistantes aux fluoroquinolones : (**14,74%**) pour ciprofloxacine

Il faut noter que presque la totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine (**tableau26**).

## Résultats et discussion

**Tableau26.** Taux de résistances des 418 souches

Antibiotique	Nombre de souches testés	Nombre de souches résistantes (R)	Pourcentage%
TIC	405	254	62,72
PIP	338	206	60,95
PIP+TAZ	320	116	36,25
TCC	14	4	28,57
CAZ	568	85	14,96
CFS	23	9	39,13
CEF	317	72	22,71
AZM	354	40	11,3
IPM	382	91	23,82
GEN	399	150	37,59
AMK	377	91	24,14
TOB	4	4	100
CIP	380	56	14,74
FOS	240	55	22,92
COL	406	2	0,49

### 9-1- En 2020

Nos isolats se sont révélés résistants à de nombreux ATB, concernant les  $\beta$ -lactamines: **38,26%** à la ticarcilline, (**38,83%**) à la piperacilline et (**24,01%**) à la céfépime et (**24,31%**) à la ceftazidime. De plus, (**25,71%**) sont résistants à l'imipénème.

Pour les aminosides, les taux de résistance sont de (**38,77%**) pour la gentamicine et (**23,18%**) pour l'amikacine, des souches sont résistantes aux fluoroquinolones : (**12,32%**) pour ciprofloxacine

Il faut noter que presque la totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine (**tableau27**).

## Résultats et discussion

**Tableau27.** Taux de résistances des 234 souches (2020)

Antibiotique	Nombre de souches testés	Nombre de souches résistantes (R)	Pourcentage%
TIC	230	88	38,26
PIP	206	80	38,83
PIP+ TAZ	173	48	27,75
CAZ	210	54	25,71
CFS	23	9	39,13
CEF	181	44	24,31
AZM	193	25	12,95
IPM	229	55	24,02
GEN	227	88	38,77
AMK	220	51	23,18
TOB	4	4	100
CIP	219	27	12,32
FOS	119	30	25,21
COL	225	2	0,89

### 9-2- En 2021

Nos isolats se sont révélés résistants aux  $\beta$ -lactamines: (**47,43%**) à la ticarcilline, (**47,73%**) à la piperacilline et (**23,53%**) à la céfépime et (**17,51%**) à la ceftazidime. De plus, (**23,53%**) sont résistants à l'imipenème.

Pour les aminosides, les taux de résistance sont de (**36,05%**) pour la gentamicine et (**25,48%**) pour l'amikacine, des souches sont résistantes aux fluoroquinolones: (**18,01%**) pour ciprofloxacine

Il faut noter que la totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine (**tableau28**).



## Résultats et discussion

---

**Tableau 28.** Taux de résistances des 184 souches (2021)

Antibiotique	Nombre de souches testés	Nombre de souches résistantes (R)	Pourcentage %
TIC	175	83	47,43
PIP	132	63	47,73
PIP+TAZ	147	34	23,13
TCC	14	4	28,57
CAZ	177	31	17,51
CEF	136	32	23,53
AZM	161	15	9,32
IPM	153	36	23,53
GEN	172	62	36,05
AMK	157	40	25,48
CIP	161	29	18,01
FOS	121	25	20,66
COL	181	0	0

### II- Discussion

*P. aeruginosa* est l'un des principaux agents pathogènes responsables des infections liées aux soins, avec un réservoir essentiellement hospitalier et une capacité d'acquérir et de cumuler facilement plusieurs mécanismes de résistance. Ces infections sont favorisées par un terrain immunodéprimé et la mise en place de matériels invasifs comme les sondes vésicales pour les infections urinaires, les cathéters intravasculaires pour les bactériémies et les sondes d'intubation pour les pneumopathies chez les patients ventilés mécaniquement. Ces dispositifs créent une brèche qui favorise la contamination de milieux normalement stériles [12].

Notre étude a permis d'isoler 418 souches de *P. aeruginosa* au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine durant 20 mois, période d'étude allant du 1er janvier 2020 au 31 aout 2021.

*P. aeruginosa* est isolé essentiellement au niveau de l'unité de bactériologie médicale : 270 (64,59%) suivie par l'unité des ECBU : 76 (18,18%), les hémocultures: 64 (15,31%) et la réanimation médicale : 8 (1,91%).

Ces résultats peuvent s'expliquer par le nombre plus élevé des traités par l'unité de bactériologie médicale par rapport aux autres unités.

Nous avons constaté que : une légère prédominance des patients de sexe masculine avec (54,31%) des cas contre 45,69% chez les patients de sexe féminin. Nos résultats sont similaires à une étude marocaine. Mais il faut noter que d'autres études rapportent une équivalence d'isolement chez les deux sexes ou même une prédominance du sexe féminin [111, 112, 113].

Cela peut indiquer que le sexe n'est pas un facteur déterminant au cours d'une infection à *P. aeruginosa*.

*P. aeruginosa* est recherché dans différents types de prélèvements : les pus, les urines, les prélèvements bronchiques, le sang, le LCR..., (44,5%) des souches ont été isolées à partir de prélèvements des pus, (18,9%) à partir des urines, (15,79%) à partir du sang.

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.

## Résultats et discussion

---

Nos résultats sont en concordance avec ceux d'une étude réalisée à l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat entre 2006-2008, et celle dans un centre hospitalier universitaire à Monastir en 2004, qui rapportent que *P. aeruginosa* est isolé essentiellement, à partir des pus, des urines, et des hémocultures [114].

Mais ils sont différents de ceux retrouvés dans une étude libanaise qui note que *P. aeruginosa* est majoritairement isolé dans les urines (39,3 %), suivies par les prélèvements de plaies (21,2 %) et les prélèvements d'oreille (16,5 %) [115].

La bactérie est isolée essentiellement dans le service du centre des brûlés (21,05%), les externes (15,07%), et la chirurgie (10,29%).

Ces taux sont différents à ceux retrouvés dans plusieurs études. Comme l'étude réalisée au CHU Fatouma Bourguiba de Monastir entre 2002 et 2005 qui rapporte que (33,5%) des souches sont isolées dans les services de réanimation et (24,3%) dans les services de chirurgie et celle faite dans différents hôpitaux de l'Ouest Algérien et qui rapporte que *P. aeruginosa* est isolé essentiellement en réanimation (65,9%), en chirurgie générale (15,2%) et en neurochirurgie (7,8%) [112, 113].

*P.aeruginosa* est très abondante au service des brûlés.

Beaucoup d'infections sont cutanées. Si les bactéries de la peau sont détruites au moment de la brûlure. La brûlure, stérile dans les premières heures, est donc rapidement colonisée, initialement (dans les 48 h) par des bactéries cutanées (cocci à Gram positif essentiellement) puis (fin de la première semaine) par d'autres bactéries de l'environnement comme *P.aeruginosa* ainsi que par des fungi. Toutefois, cette colonisation participe dans la contamination de la zone brûlée, qui permet à la bactérie d'entre dans le sang qui peut causer la mort [111].

Nous avons constaté au cours de notre travail que *P. aeruginosa* était associé à d'autres germes. Cela pourrait être dû à une immunodépression surtout les brûlures des patients infectés qui favorise les infections multibactériennes et les infections liées aux soins, à une contamination lors des prélèvements, transports ou manipulations ou, il peut s'agir dans certains cas, d'une simple colonisation...

La résistance des bactéries aux ATB pose un grand problème au niveau des hôpitaux algériens et dans le monde. Le seul fait marquant de notre étude est le taux de résistance de *P.aeruginosa* aux différentes classes d'ATB testées.

## Résultats et discussion

---

*P. aeruginosa* est un germe naturellement résistant beaucoup d'ATB, seuls quelques ATB efficaces sont donc testés dans l'antibiogramme.

Au sein de la famille des bêtalactamines la Ticarcilline piperacilline est l'ATB vis-à-vis duquel le *P. aeruginosa* a développé plus de résistance avec un taux de (62,72%), suivi par la piperacilline (60,95%), céfépime (24,01%), ceftazidime (22,71%), et l'imipénème (23.82%).

Ces résistances sont liées à la capacité du germe à acquérir divers mécanismes de résistance enzymatiques (pénicillinases, hyperproduction de cephalosporinase chromosomique, bêtalactamases à spectre étendu), souvent associés à d'autres mécanismes (mutation, efflux...).

Le principal mécanisme par lequel *P.aeruginosa* acquiert une résistance aux bêtalactamines est la réduction de la perméabilité par perte porine OprD2, voie préférentielle de pénétration des carbapénèmes.

A Annaba, le taux de résistance est inférieur à celui de notre étude. La résistance aux B-lactamines (ticarcilline, ceftazidime, aztreonam) est d'une moyenne de (17,6%) [116].

Les niveaux de résistance à la ticarcilline sont moins élevés à l'hôpital de Tlemcen (18.1%) et de Sidi Bel Abbès (25,8%) [13].

Au Maroc, la résistance à la ceftazidime est supérieure à celle notée au cours de notre étude (50,3%) [116].

La classe des fluoroquinolones occupe la deuxième position après celle des bêtalactamines par rapport aux classes vis-à-vis desquelles *P. aeruginosa* a développé plus de résistance avec un taux de (14,74%) vis-à-vis de la ciprofloxacine.

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans une étude Bulgare (80,3%) et ceux d'une étude iranienne (55%) [117].

Les aminosides testés pour *P. aeruginosa*, sont l'amikacine, la gentamicine, et la tobramycine. La famille des aminosides est la classe vis-à-vis de laquelle le *P. aeruginosa* a développé moins de résistance : le taux de la gentamicine est de (37,59%), suivi de l'amikacine (24,14%).

Deux autres ATB sont testés pour le *P. aeruginosa*, il s'agit de la fosfomycine et la colistine.

## Résultats et discussion

---

Les données épidémiologiques montrent bien que si la résistance de *P. aeruginosa* aux ATB n'augmente pas de façon importante en Algérie, la nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante avec l'émergence de carbapénèmases. Le risque de diffusion des souches résistantes est bien présent en plus de possibilité d'importation à partir de pays voisins où ces souches sont plus répandues [8]. Ceci doit donc appeler à une forte vigilance grâce au dépistage précoce de ces mécanismes de résistance et au renforcement des mesures d'hygiène autour des cas d'infection ou de portage afin d'éviter leur transmission [12].

# Conclusion

## Conclusion

---

*P.aeruginosa* est un germe responsable de pathologies variées, fréquentes et redoutables dus au pouvoir toxique de ces germes et à leur capacité de résistance aux ATB.

Malgré les progrès thérapeutiques, les infections dus à *P.aeruginosa* et des mortalités d'une part, des difficultés thérapeutiques engendrées par cette bactérie d'autre part. Ces infections sont des évènements cliniques sévères, très souvent décrites dans un cadre nosocomiale.

D'après les résultats de ce travail, l'analyse bactériologique des prélèvements cliniques émanant des différents services de CHU de Constantine. Nous avons noté que la bactérie est isolée essentiellement dans le centre des brûlés avec 88 cas (21,05%), suivi par les externes avec 63 cas (15,07%), et la chirurgie avec 43 cas (10,29%). La bactérie est retrouvée surtout dans les pus avec 186 cas (44,5 %), suivis des urines avec 79 cas (18,9 %), du sang avec 66 cas (15,79 %)

La résistance aux antibiotiques s'est révélée importante, elle peut être liée essentiellement à la pression de sélection d'ATB exercée et à un problème de maîtrise de l'environnement hospitalier. Les taux de résistances retrouvés dans notre étude sont élevés, concernant les  $\beta$ -lactamines : (62,72%) à la ticarcilline,( 60,95%) à la piperacilline et (24,01%) à la céfépime et (22,71%) à la ceftazidime. De plus, (23,82%) sont résistants à l'imipénème. Pour les aminosides, les taux de résistance sont de (37,59%) pour la gentamicine et (24,14%) pour l'amikacine, des souches sont résistantes aux fluoroquinolones : (14,74%) pour ciprofloxacine. Il faut noter que presque la totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine.

Nous avons noté que *Pseudomonas aeruginosa* a été associé à 113 fois à d'autres bactéries. Ce germe est associé essentiellement aux entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* (23,48%), *Escherichia coli* (15,93%), *Enterobacter cloacae* (8,7 %)).

La prévention des résistances contre la diffusion de ce pathogène résistant est basée essentiellement sur les mesures d'hygiène mais aussi sur le bon usage des ATB grâce à une collaboration étroite, entre cliniciens, microbiologistes et pharmacien.

# Références



## Références

---

### Références bibliographiques

- [1] Mérens A., Jault P., Bargues L., Cavallo JD., (2013). Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. EMC - Maladies infectieuses .10, 1-18.
- [2] Eyquem A., Alouf J., Montagnier L.( 2005). Traité de microbiologie. Clinique :quatrième mise à jour et compléments. p238.
- [3] Kerr KG., Snelling AM., (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. J Hosp Infect 73, 338-44.
- [4] Sadikot, R.T., et al. (2005). Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa pneumonia*. Am J Respir Crit Care Med, 171(11): 1209-23.
- [5] Lister, P.D., Wolter D.J., and Hanson N.D.(2009) Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev, 22(4), 582-610.
- [6] James A. Karlowsky, Deborah C. Draghi,<sup>1</sup> Mark E. Jones,<sup>2</sup> Clyde Thornsberry,<sup>3</sup> Ian R. Friedland,<sup>4</sup> and Daniel F.(2003). Sahm<sup>1</sup>, Surveillance for Antimicrobial Susceptibility among Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from Hospitalized Patients in the United States,1998 to 2001. Antimicrob Agents Chemother.
- [7] Lyczak, J. B., Cannon, C. L., et Pier, G. B.(2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist . Microbes Infect,<sup>2</sup> (9), 1051-60.
- [8] Chaker H. (2012) . Regulation de l'adaptation de la bacterie *Pseudomonas aeruginosa* a son hote : implication des metabolites du tryptophane .
- [9] Floret D. (2009). Immunization: process of elaborating guidelines and their evolution in France. Ann Pharm Fr 67, 219-223.
- [10] Green S K., Schroth M N., Cho J., Kominos S K., Vitanza-jack V B. (1974). Agricultural plants and soil as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Microbiol 28, 987-991.
- [11] Yeterian E. (2010). Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg .p11.
- [12] Achari N., Benchaita A., Benchikh el fegoun R. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de constantine. Mémoire pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie : pharmacie. Constantine : Université de constantine<sup>3</sup>. p3.

## Références

---

- [13] <http://www2.m-techmicro.com/products/chromagar/pseudomonas/>
- [14] Solbi S. (2013). Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux ATB. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie: pharmacie .Rabat : Université Mohammed 5 –souissi- . p6-11-12-13.
- [15] Science Source. « Find art america [en ligne] ». Find art america. 2016. Disponible sur: <https://fineartamerica.com/featured/1-mdr-pathogen-pseudomonas-aeruginosa-science-source.html>. 2016
- [16] Montil H. Avril., Daberna L.H. , Denis T F.( 1992). Bactériologie clinique 2ème édition.
- [17] Ariane B. (2017). Les infections a *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements en 2017 . Thèse pour obtenir un diplôme d'état de docteur : Pharmacie. Bretagne : Université de Rennes 1.p14, 34,57.
- [18] <https://www.microbiologie-clinique.com/milieucultures.html>
- [19] [https://www.memobio.fr/html/bact/ba\\_pae.html](https://www.memobio.fr/html/bact/ba_pae.html)
- [20] Barir O. et Ghilani M. (2011). Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière. Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra: Université Mohamed khider-Biskra.
- [21] Boudouda R. (2015). Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de master : Génétique Moléculaire. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine. p3-4-14-15.
- [22] Souley L., Moustafa F.S. (2002). Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB à l'hôpital du point G. Thèse présenté pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. Université de Bamako. p95
- [23] Palleroni N. (1984). Manual of Systematic Bacteriology. USA. P141–171.
- [24] Mezaache S. (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre.
- [25] Memdouh S., Reddaf N. (2018). Les infections a *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de constantine.. Mémoire de master: biologie appliquée . Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. p4-7-9-10-27-28.
- [26] Boussouf O., Yahia CH.( 2020). Epidémiologie et profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* a l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire de master : biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine.p5-6-7.

## Références

---

- [27] Poly M C., Martin C L., Bingen E. (2007). *Quentin Bactériologie médicale technique usuelle*.
- [28] Darghout S., Metheni A. (2016). Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans la région de Constantine. Mémoire du master : Genetique moleculaire. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. p15-18-19-22.
- [29] Cady A. (2006). Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Étude Université de Nantes faculté de pharmacie.
- [30] Duchesne R.( 2017). Rôle du facteur sigma a fonction extracytoplasmique SigX dans l'adaptation : la formation de biofilm et la réponse à des stress de l'enveloppe chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Université de Rouen Normandine. p22.
- [31] Stover C K., Pham X Q., Erwin A L., Mizoguchi S D., Warrenner,P., Hickey,M J. et al. (2000) Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 406, 959-964.
- [32] Veron M ,. (1983). Biologie de *Pseudomonas aeruginosa*. *Médecine et maladies infectieuses*. 13(6) ,352-356.
- [33] Ben Hadj Khalifa A. et al (2011). Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. 69(4).
- [34] Perrin. Structure et croissance bactérienne Relations hôtes - bactéries. Slide player. (2015); <http://slideplayer.fr/slide/3194550/>
- [35] Gougeon A. (2017). Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* : analyse de 181 épisodes bactériémiques documentés dans deux établissements hospitaliers du Nord de la France. Mémoire pour le diplôme d'étude spécialisé de biologie médicale. France : Université de lile2. p23-25-26-28-29-30-31-32.
- [36] Guerey B., Kipnis E., Beraud G., Faure K. (2009). Pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa* aspects thérapeutiques. *MAPAR*. p206-215.
- [37] Meradji S.(2017). *P. aeruginosa* : facteurs de virulence et évaluation de la résistance aux bêta-lactamines et aux quinolones. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de badji mokhtar:annaba. p35.
- [38] Bricha S., Ounine K., Oulekheir S. et al.(2009). Virulence factors and epidemiology related to *Pseudomonas aeruginosa*. *Revur tunisienne dinfectiologie*. 2(7), p9.

## Références

---

- [39] Patrick, Jean-Louis G., Michel S. (1989). Bactériologie : les bactéries des infections humaines. France : Médecine –sciences Flammarion.-(collection de la biologie à la clinique). p230
- [40] Thierry (1997). Les infections microbiennes : Agents infectieux. France: Nathan. p26.
- [41] Mehdi Ch., et al. (2014). Epidemiology and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a maroccan pediatric hospital: therapeutic guidelines. (11), p283-290.
- [42] Traore A. (2019). Sensibilité aux ATB des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de 2004 à 2009 au CHU de Point G.Thèse présenté pour obtenir le grade de docteur en pharmacie .Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. p9.
- [43] Collectif, Bergogne-Bérézin E. *Pseudomonas aeruginosa*. : Son rôle dans les infections respiratoires. Paris: Phase 5; 2002.
- [44] CMIT, Rapp C, Pulcini C, Tattevin P. E. Pilly 2016 : Maladies infectieuses et tropicales.
- [45] Le N., A.C.G.C.(2005). Complicated urinary tract infection in adults. Can J Infect Dis Med Microbiol, 16(6), p. 349-360
- [46] Elkharrar Elkharrar D t, LA., Benhamou F, Dray A, Grenet J.(2007). Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France, in Les infections urinaires. Springer Paris. p. 1-20.
- [47] Freney Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. (2007).Collectif. Précis de bactériologie clinique. 2<sup>e</sup> édition. Paris: Editions Eska.
- [48] Habbi A., Bouacha H., DJera K. (2020). Épidémiologie et résistance aux ATB du *Pseudomonas aeruginosa* sur cinq ans (2015- 2019) au CHU NEDIR Mohamed de Tizi ousou. MEMOIRE DE FIN D'ETUDE En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médecine Département de Pharmacie. Université Mouloud Mammeri De Tizi Ouzou. p 07
- [49] Nyaledome A.I (2016). *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. Université Mohammed- V–RABAT.
- [50] Cabrolier N., Bertrand J.L., X.( 2014).Épidémiologie et facteurs de risques des infections liées à *Pseudomonas aeruginosa*. Journal des Anti-infectieux. p 8-12.

## Références

---

- [51] Clave D.(2011). Fiche technique bactériologie *Pseudomonas aeruginosa* centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique
- [52] Clifton I J., & Peckham D G. (2010). Defining routes of airborne transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 4(4), 519-529. doi: 10.1586/ers.10.42.
- [53] Mena, K. D., & Gerba, C. P. (2009). Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201, 71-115. doi: 10.1007/978-1-4419-0032-6\_3.
- [54] Kayser F H., Bienz K A., Eckert J., & Zingernagel, R. M. (Eds.). (2001). *Medical Microbiology*(10th ed.). Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag.
- [55] Banerjee, D., & Stableforth, D. (2000). The treatment of respiratory *Pseudomonas* infection in cystic fibrosis : what drug and which way? *Drugs*, 60(5), 1053-1064.
- [56] Lepape A. (2003). Epidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 22(6), p520-522.
- [57] Weiss C. (2002). La résistance bactérienne : nouvelle guerre froide. *Le médecin du Québec* .37(3) ,41-49.
- [58] Mesaros N., Nordman P., Plesiat P.(2007). *Pseudomonas aeruginosa*:resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect* 2007. 13(6),560-578.
- [59] Veysiere A,. (2019). La résistance aux ATB des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. *Sciences du Vivant [q-bio]*. dumas02432394.p41.
- [60] Elmeskini K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* .Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat.p43-60
- [61] [http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c\\_12956/ATBcontrebacteries?portal=j\\_55&printView=true](http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/ATBcontrebacteries?portal=j_55&printView=true)
- [62] Obritsch M D, Fish D N, MacLaren R, Jung R.(2004). National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother*. 48, 4606-10.
- [63] Shorr A F. (2009). Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 37, 1463-9.

## Références

---

- [64] Montalegre R. (2016). Évaluation de risque d'émergence de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à différents ATB antipycyaniques en réanimation. Thèse de doctorat en médecine. Université de Toulouse III. Faculté de médecine de Toulouse.
- [65] Livermore D M. (1995). Bêta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* .8, 557-84.
- [66] Bert F., Branger C., Lambert-Zechovsky N. (2002). Identification of PSE and OXA bêta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR-restriction fragment length polymorphism. *J Antimicrob Chemother*.50, 11-8.
- [67] Buch K., Jakoby G A., Medeirosa A.(2010). A functional classification scheme for bêta- lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*.
- [68] Sanschagrín F, Bejaoui N, Levesque RC. (1998). Structure of CARB-4 and AER-1 carbenicillin- hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*.42(8),1966-72.
- [69] Weldhagen G.F., Poirel L., and Nordmann P. (2003). Ambler Class A Extended-Spectrum B-Lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel Developments and Clinical Impact. *Antimicrob Agents Chemother* . 47, 2385-2392.
- [70] Nordmann P, Guibert M.(1998). Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 42(2),128-31.
- [71] Giske CG, Libisch B, Colinon C, Scoulica E, Pagani L, Fuzi M, et al(2006). Establishing clonal relationships between VIM-1-like metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from four European countries by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol*. 44(12):4309-15.
- [72] Poirel L., Girlich D., Naas T., and Nordmann P. (2001) OXA-28, an extended-spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid- and integron-located gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 45, 447-453.
- [73] Nordmann P. (2003). Mechanisms of resistance to betalactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Fr Anesth Reanim* ,22, 527-530.
- [74] Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T.(2000). Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 44(12),3322-7.

## Références

---

- [75] Muller C, Plesiat P, Jeannot K. (2011). A Two-Component Regulatory System Interconnects Resistance to Polymyxins, Aminoglycosides, Fluoroquinolones, and  $\beta$ -Lactams in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(3), 1211–21.
- [76] Lanes C, Kohler T, Patry I, Dehecq B, van Delden C, Plesiat P.(2011). Role of the MexEF-OprN Efflux System in Low-Level Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(12), 5676–84.
- [77] Jeannot K, Elsen S, Kohler T, Attree I, van Delden C, Plesiat P. (2008). Resistance and Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains Overproducing the MexCD-OprJ Efflux Pump. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(7), 2455–62.
- [78] Strateva T., and Yordanov D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol.* 58, 1133-1148.
- [79] Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., STRATCHOUNSKI L.2003.Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 47, 3724-32.
- [80] Miller G., Sabatelli F., Hare R., et al. (1997). The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms--changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clin Infect Dis.* 24(1), S46-S62.
- [81] Ramirez M S., Tolmasky M E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat.* 13, 151-171.
- [82] Libisch B., Poirel L., Lepsanovic Z., Mirovic V., Balogh B., Paszti J. et al. (2008). Identification of PER-1 extended-spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates of the international clonal complex CC11 from Hungary and Serbia. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 54, 330-338.
- [83] Evans D J, Pier G B, Coyne M J, Goldberg J B.(1994). The rfb locus from *Pseudomonas aeruginosa* strain PA103 promotes the expression of O antigen by both LPS-rough and LPS-smooth isolates from cystic fibrosis patients. *Mol Microbiol.* ;13 (3):427-34.

## Références

---

- [84] Goldberg JB, Hatano K, Meluleni GS, Pier GB.(1992). Cloning and surface expression of *Pseudomonas aeruginosa* O antigen in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA. 89(22), 10716-20.
- [85] Doi Y., and Arakawa Y. (2007) 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. Clin Infect Dis .45, 88-94.
- [86] Yokoyama K., Doi Y., Yamane K., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K. et al. (2003). Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. Lancet 362, 18881893.
- [87] Macfarlane EL, Kwasnicka A, Hancock RE.(2000) Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP- phoQ in resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides. Microbiology.146 ( 10),2543-54.
- [88] Lee J K., Lee Y S., Park Y K., and Kim B S. (2005). Alterations in the GyrA and GyrB subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Antimicrob Agents .25, 290-295.
- [89] Jacoby G A. (2005) Mechanisms of resistance to quinolones. Clin Infect Dis. 41(2), S120-S126.
- [90] Akasaka T, Tanaka M, Yamaguchi A, Sato K.(2001). Type II topoisomerase mutations in fluoroquinolone-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 1998 and 1999: role of target enzyme in mechanism of fluoroquinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 45(8),2263 8.
- [91] Wang D D., Sun TY., and Hu Y J. (2007). Contributions of efflux pumps to high level resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin. Chin Med J (Engl ). 120, 68-70.
- [92] Li Y., Mima T., Komori Y., Morita Y., Kuroda T., Mizushima T., and Tsuchiya T. (2003). A new member of the tripartite multidrug efflux pumps, MexVW-OprM, in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother .52, 572-575.
- [93] Nakajima A., Sugimoto Y., Yoneyama H., and Nakae T. (2002). High-level fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay of the MexAB-OprM efflux pump and the DNA gyrase mutation. Microbiol Immunol .46, 391-395.
- [94] Magiorakos A.-P., Srinivasan A., Carey R. B., Carmeli Y., Falagas M. E., Giske C. G., et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and



## Références

---

- pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 268–281.  
doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- [95] Oliveira, D. M. P. D., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., et al. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 33. doi:10.1128/CMR.00181-19
- [96] Gomila, M., Del Carmen Gallegos, M., Fernández-Baca, V., Pareja, A., Pascual, M., Díaz-Antolín, P., et al. (2013). Genetic diversity of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a public hospital in Spain. *BMC Microbiol.* 13, 138.  
doi:10.1186/1471-2180-13-138.
- [97] Amarasinghe, S L., Su, S., Dong, X., Zappia, L., Ritchie, M. E., and Gouil, Q. (2020). Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biol.* 21, 30. doi:10.1186/s13059-020-1935-5.
- [98] Onerba (2018). Rapport d'activité 2017. Available at: [http://onerba.doc.onerba.org/Rapports/Rapport-ONERBA-2017/ONERBA\\_rapport\\_2017.pdf](http://onerba.doc.onerba.org/Rapports/Rapport-ONERBA-2017/ONERBA_rapport_2017.pdf) [Accessed April 24, 2019].
- [99] Centre National de Référence de la Résistance aux ATB (2018). Rapport d'activité 2018. Available at: <http://www.cnr-resistance-ATB.fr/bilans-dactivite.html> [Accessed April 17, 2020].
- [100] Boucher, H W., Talbot, G H., Bradley, J S., Edwards E., Gilbert D., Rice L B., et al. (2009). Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 48, 1–12. doi:10.1086/595011.
- [101] Rice L B. (2008). Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J. Infect. Dis.* 197, 1079–1081.  
doi:10.1086/533452.
- [102] Centers for Disease Control and Prevention (2019). Antibiotic resistant threats in the United States 2019. Available at: <https://cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-arthreats-report-508.pdf> [Accessed May 28, 2020].
- [103] CPias (2018). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017. Available at: [http://www.cpias.fr/ES/surveillance/synthese\\_ENP2017.pdf](http://www.cpias.fr/ES/surveillance/synthese_ENP2017.pdf) [Accessed October 8, 2018].

## Références

---

- [104] Denis F., Poly M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. Bactériologie médicale, technique usuelles. Masson, Cedex.2007; 333-335.
- [105] <https://www.researchgate.net/publication/350357110>
- [106] Mderreg B.(2015. Infection à *Pseudomonase aeruginosa* en réanimation. Évolution de la résistance aux ATB à travers le temps. Thèse n° 196. Thèse présentée à l'Université Mohamed V-RABAT. p408.
- [107] Delarras C. (2007).Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc Lavoisier. p 476.
- [108] CLSI, (2011). Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. M100- S21 31.
- [109] Tortora G J ; Berdell B F ; Christine L C. (2003).Introduction à la microbiologie. Montreal : ERPi édition. p. 945.
- [110] Réseau algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux ATB. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). (2014). Disponible sur : <http://www.santé.dz/aarn/index.htm>.
- [111] Aissa k. (2012).Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB dans les services de réanimation de l'HMIM V de rabat entre 2006 et 2010.these de doctorat.
- [112] Déziel E., Lépine F., Dennie D., Boismenu D., Mamer O.A., Villemur R. (1999). Liquid chromatography/mass spectrometry analysis of mixtures of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain 57RP grown on mannitol or naphthalene. *Biochim Biophys Acta*,(1440),244-252
- [113] Jensen P.O., Bjarnsholt T., Phipps R., Rasmussen T. B., Calum H., Christoffersen L., Moser C., Williams P., Pressler T., Givskov M. et Høiby N. (2007). Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorumsensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, (153), 1329-1338.
- [114] Chokri K. (2009). La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* dans l'hôpital cheikh zaid à rabat entre 2006-2008. Thèse du doctorat en pharmacie. p. 49.
- [115] Xavier .B., céline .S., pascal .C., Daniel T. (2011).épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Elsevier masson, 435,36-39.

## Références

---

- [116] Touati M. (2013). Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar. Annaba.
- [117] Sadari H. et al.(2010). Détection of Metallo- $\beta$ -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Tehran, Iran, LABMEDICINE. 3, 609-61.

# **Annexes**

# Annexes

---

## Annexe1 : Milieu Triple Sugar Iron (TSI)

### a- Principe

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du saccharose, du glucose (avec ou sans production de gaz), et de la production de sulfure d'hydrogène.

### b- Technique

- Prendre quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou une anse de platine ;
- Ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées ;
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

### c- Lecture

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par un virage au jaune du rouge de phénol.

- Culot de couleur jaune : glucose fermenté (positif).
- Culot de couleur rouge (inchangé) : glucose non fermenté (négatif).
- Pente virant au jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s) (positif(s)).
- Pente rose-rouge : lactose et saccharose non fermentés (négatifs).

La production d'H<sub>2</sub>S se traduit par le noircissement de la zone séparant le culot de la pente ou au niveau du culot (H<sub>2</sub>S positif).

La production de gaz se traduit par la formation de bulles dans la masse du milieu repoussant parfois le milieu vers le haut du tube.

### d- Résultats

L'étude de *P. aeruginosa* par le milieu TSI donne un culot et une pente de couleur rouge. *P. aeruginosa* est une bactérie non fermentative, donc, il est glucose, lactose, saccharose. De plus, il est, H<sub>2</sub>S et gaz négatif.

## Annexes

---

### Annexe2 : Milieu citrate de Simmons

#### a- Principe

Le but de ce test est de savoir si la bactérie utilise le citrate (acide organique) comme seule source de carbone et d'énergie.

Ce milieu contient du bleu de bromothymol comme indicateur de pH (à pH acide : jaune à pH neutre : vert et à pH alcalin : bleu). L'utilisation du citrate s'accompagne d'une alcalinisation du milieu, mise en évidence par le virage du bleu de bromothymol au bleu.

#### b- Technique

- Prendre une goutte de la suspension bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile ;
- Déposer la goutte sur le milieu citrate de Simmons incliné ;
- Ensemencer la moitié supérieure du milieu au citrate de Simmons par une strie unique centrale. Garder la moitié inférieure du milieu comme témoin ;
- Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

#### c- Lecture

- Culture et/ou virage au bleu (alcalinisation) : citrate positif.
- Absence de culture et pas de virage au bleu (milieu vert) : citrate négatif.

#### d- Résultats

Sur le milieu citrate de Simmons, *P. aeruginosa* provoque un virage du milieu en bleu. *P. aeruginosa* est citrate positif.

### Annexe 3 : Milieu mannitol mobilité

#### a- Principe

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant du mannitol et du rouge de phénol comme indicateur. Il est utilisé pour l'étude de deux caractères qui sont :

- La fermentation du mannitol : lors de l'utilisation du mannitol il y a acidification du milieu et l'indicateur du pH (le rouge du phénol).

## Annexes

---

- La mobilité : s'exprime par l'apparition d'un trou au milieu dû à la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement.

### **b- Technique**

- Réaliser une piqure centrale à travers le milieu, à l'aide d'une pipette Pasteur contenant quelques gouttes de la suspension bactérienne ;

- Incuber à l'étuve à 37°C durant 18 à 24 heures.

### **c- Lecture**

- Virage du milieu au jaune (acidification) : mannitol positif.

- Le milieu garde sa couleur initiale (rouge) : mannitol négatif.

- Culture dans toute la gélose (trouble) et diffusion à partir de la piqure : bactérie mobile.

- Culture le long de la piqure seulement et pas de diffusion : bactérie immobile.

### **d- Résultats**

L'étude de *P. aeruginosa* par le milieu mannitol-mobilité donne un milieu de couleur rouge avec une culture en dessus de la gélose en contact avec l'air. *P. aeruginosa* est une bactérie mannitol négatif (métabolisme oxydatif).

## **Annexe 4 : Milieu Clark et Lubs**

### **a- Principe**

Ce milieu permet d'étudier une voie de fermentation du glucose : la voie du butane diol  
**Test VP (Voges-Proskauer)** : il permet de détecter la production d'acétoïne de diacétyl et de butane-diol à partir de la fermentation du glucose. L'ajout des réactifs VP1 et VP2 permet d'obtenir une coloration ros ou rouge acétoïne après 10 à 15 min.

**Test du rouge de méthyle** : ce test permet la mise en évidence, après addition du rouge de méthyle, de la fermentation acide mixte (apparition immédiate d'une couleur rouge).

### **b- Technique**

- Ajouter 3 à 5 gouttes de la suspension dans le milieu Clark et Lubs ;

## Annexes

---

- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- Après incubation nous avons partagé le milieu en deux tubes d'hémolyse pour pratiquer les deux tests :

### 1- Test de RM :

- Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle.
- Lecture immédiate.

### 2- Test de VP :

- Ajouter 2 à 3 gouttes de VP1 et 2 à 3 gouttes de VP2.
- Agiter et incliner le tube pour favoriser l'oxygénation du milieu.
- Lire au bout de 15 minutes.

### c- Lecture

#### 1- Test de RM :

- Milieu rouge : RM positif.
- Milieu marron : RM négatif.

#### 2- Test de VP :

- Coloration rouge en surface : VP positif.
- Pas de coloration : VP négatif.

### d- Résultat

*P. aeruginosa* est une bactérie non fermentative, il est donc RM et VP négatifs.

## Annexe 5 : Milieu urée-indole

### a- Principe

Le milieu urée-indole per et de mettre en évidence trois caractères : l'uréase l'indole et la TDA.

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. L'ammoniac alcalinise le milieu et entraîne le virage du rouge de phénol (indicateur du pH) au rose-rouge.



## Annexes

---

L'indole est le produit de l'hydrolyse du tryptophane par une enzyme, la tryptophanase. Il est mis en évidence grâce à la coloration rouge caractéristique qu'il donne avec le réactif de Kovacs.

Le tryptophane désaminase (TDA) est une enzyme qui dégrade (désamination) le tryptophane en acide indole-pyruvique. En présence du perchlorure de fer et en milieu acide, l'acide indole-pyruvique donne un précipité brun-noir caractéristique.

### **b- Technique**

- Mettre 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne dans le milieu urée-indole.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24h.

Après avoir constaté la couleur du milieu :

- Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs pour la mise en évidence de l'indole.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de perchlorure de fer (réactif de TDA) pour la mise en évidence du tryptophane désaminase.

### **c- Lecture**

Noter dans l'ordre :

- Virage du milieu au rose-rouge : uréase positive.
- Le milieu a une teinte jaune : uréase négative.

Après ajout du réactif de Kovacs :

- formation d'un anneau rouge à l'interface : indole positif.
- Absence d'anneau rouge (anneau marron) : indole négatif.

Après ajout du perchlorure de fer (réactif de TDA) :

- formation d'un précipité brun-noir : bactérie TDA positive.
- Coloration jaune : bactérie TDA négative.

### **d- Résultat**

Dans le milieu urée-indole, *P. aeruginosa* peut être uréase positive, il est indole positif, mais toujours TDA négative.

## Résumé

*Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie pathogène opportuniste par excellence, peu virulent chez le sujet sain ; il est très pathogène chez le sujet immunodéprimé et affaibli. Il est le plus souvent responsable d'infections liées aux soins.

Au cours de notre étude (du 1<sup>er</sup> janvier 2020 au 31 août 2021), 20666 prélèvements ont été reçus au laboratoire de microbiologie de CHU de Constantine, nous avons isolé 418 souches de *P. aeruginosa*. Ce germe a été isolé essentiellement dans les pus avec 186 cas (44.5 %), suivis des urines avec 79 cas (18.9 %), du sang avec 66 cas (15.79 %). Il a été retrouvé principalement dans le centre des brûlés avec 88 cas (21.05%), suivi par les externes avec 63 cas (15.07%), et la chirurgie avec 43 cas (10.29%).

L'étude de la sensibilité *in vitro* a révélé des taux de résistances élevés aux différents ATB testés : (62.72%) à la ticarcilline, (60.95%) à la piperacilline et (24.01%) à la céfépime et (22.71%) à la ceftazidime. De plus, (23.82%) sont résistants à l'imipénème, (37.59%) pour la gentamicine, (24.14%) pour l'amikacine et (14.74%) pour ciprofloxacine. La totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine.

Une antibiothérapie adaptée, une surveillance rigoureuse des résistances et le respect des mesures d'hygiène sont nécessaires afin d'éviter l'émergence de souches multirésistantes et la propagation des infections liées aux soins dues à des bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa*, caractérisées par leur multirésistance.

**Mots-Clés:** *Pseudomonas aeruginosa*, infections opportunistes, infections liées aux soins, multirésistance.

## Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic bacterium that is pathogenic par excellence, and is not very virulent in healthy people; it is highly pathogenic in people with weakened and weakened immunity. They are often responsible for healthcare-related infections.

During our study (from 20 January 1, 2020 to August 31, 2021), 20,666 samples were received at the microbiology laboratory of the university hospital of Zonstantine, and we isolated 418 strains of *P. aeruginosa*. MRSA was isolated mainly from pus with 186 cases (44,5%), followed by urine 79 cases (18.9%), blood 66 cases (15,79%), it was found mainly in the burn center with 88 cases (21,05%), followed by outpatients 63 cases (15,07%), and surgery 43 cases (10,29%).

An in vitro sensitivity study showed high rates of resistance to various tested antibiotics: (62,72%) for ticarcillin, (60,95%) for piperacillin, (24,01%) for cefepime and (22,71%) for ceftazidime. In addition, (23,82%) are resistant to imipenem, (37,59%) to gentamicin, (24,14%) to amikacin and (14,74%) to ciprofloxacin. All isolated strains are sensitive to colistin.

Appropriate antibiotic treatment and strict control of resistance and compliance with hygiene measures are essential to avoid the emergence of multidrug-resistant strains and the spread of treatment-associated infections due to bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, characterized by their multidrug resistance.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, opportunistic infections, healthcare-related infections, multidrug-resistant.

## ملخص

*Pseudomonas aeruginosa* هي بكتيريا انتهازية مُمرضة بامتياز ، وليست شديدة الضراوة في الأشخاص الأصحاء ؛ إنه شديد الأمراض في الأشخاص الذين يعانون من ضعف المناعة. غالبًا ما تكون مسؤولة عن العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية.

خلال دراستنا (من 1 جانفي 2020 إلى 31 أوت 2021) ، تم استلام 20666 عينة في مختبر الأحياء الدقيقة في المستشفى الجامعي بقسنطينة ، وقمنا بعزل 418 سلالة من *Pseudomonas aeruginosa*. تم عزل هذه الجرثومة بشكل رئيسي من القيح مع 186 حالة (5,44٪) ، يليها البول 79 حالة (18,9٪) ، الدم 66 حالة (15,79٪) ، وجدت بشكل رئيسي في مركز الحروق مع 88 حالة (21,05٪) ، يليه الخارجيون 63 حالة (15,07٪) ، والجراحة 43 حالة (10,29٪).

أظهرت دراسة الحساسية في المختبر معدلات مقاومة عالية لمختلف المضادات الحيوية المختبرة: (62,72٪) للتيتكارسيلين ، (60,95٪) للبييراسيلين و (24,01٪) للسيفيبيم و (22,71٪) للسيفتازيديم. بالإضافة إلى ذلك (23,82٪) مقاومة للإيميبينيم ، (37,59٪) للجنتاميسين ، (24,14٪) للأميكاسين و (14,74٪) للسيروفلوكساسين. جميع السلالات المعزولة حساسة للكوليستين.

العلاج المناسب بالمضادات الحيوية والمراقبة الصارمة للمقاومة والامتثال لتدابير النظافة ضرورية لتجنب ظهور سلالات مقاومة للأدوية المتعددة وانتشار العدوى المرتبطة بالعلاج بسبب البكتيريا مثل *Pseudomonas aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas aeruginosa* ، عدوى انتهازية ، عدوى متعلقة بالرعاية الصحية ، مقاومة للأدوية المتعددة.

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Microbiologie**

**Spécialité: Biologie moléculaire des micro-organismes**

**Thème**

**Etude de profil bactériologique et la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques courant utilisée au niveau du CHU de Constantine**

**Résumé**

*Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie pathogène opportuniste par excellence, peu virulent chez le sujet sain ; il est très pathogène chez le sujet immunodéprimé et affaibli. Il est le plus souvent responsable d'infections liées aux soins.

Au cours de notre étude (du 1<sup>er</sup> janvier 2020 au 31 août 2021), 20666 prélèvements ont été reçus au laboratoire de microbiologie de CHU de Constantine, nous avons isolé 418 souches de *P. aeruginosa*. Ce germe a été isolé essentiellement dans les pus avec 186 cas (44.5 %), suivis des urines avec 79 cas (18.9 %), du sang avec 66 cas (15.79 %). Il a été retrouvé principalement dans le centre des brûlés avec 88 cas (21.05%), suivi par les externes avec 63 cas (15.07%), et la chirurgie avec 43 cas (10.29%).

L'étude de la sensibilité *in vitro* a révélé des taux de résistances élevés aux différents ATB testés : (62.72%) à la ticarcilline, (60.95%) à la piperacilline et (24.01%) à la céfépime et (22.71%) à la ceftazidime. De plus, (23.82%) sont résistants à l'imipénème, (37.59%) pour la gentamicine, (24.14%) pour l'amikacine et (14.74%) pour ciprofloxacine. La totalité des souches isolées sont sensibles à la colistine.

Une antibiothérapie adaptée, une surveillance rigoureuse des résistances et le respect des mesures d'hygiène sont nécessaires afin d'éviter l'émergence de souches multirésistantes et la propagation des infections liées aux soins dues à des bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa*, caractérisées par leur multirésistance.

**Mots-Clés:** *Pseudomonas aeruginosa*, infections opportunistes, infections liées aux soins, multirésistance.

**Jury d'évaluation :**

Président du Jury : Mme SAKHRI N MCA. UFM. Constantine 1.

Rapporteur : Mr BENLABED K. Prof. CHU. Constantine.

Examineur : Mme BOUKLOUKH W MCB. UFM. Constantine 1.

**Presentee par :**

**BENELMILI Sara**

**SAHRAOUI Rofeida Nour EL houda**