



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine

Présenté et soutenu par : *BERKANE RANIA*

Le : 02/07/2019

KERMICHE NOUR ELHOUDA

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. *OULMI LAMIA* (MCB - UFM Constantine),

Rapporteur : Mr. *LAOUAR HOCINE* (Pr - CHU Constantine),

Examineurs : Mle. *MEZIANI MERIEM* (MAA - UFM Constantine).

***Année universitaire
2018 - 2019***

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Pr **LAOUR H.** pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, et son aide ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité,

Mes remerciements s'adressent également à madame **OULMI L**

qui honoré ce travail en acceptant de présider le jury.

Madame **MEZIANI M** qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury et d'examiner mon travail, je la remercie profondément.

Ainsi que tout le personnel administratif et médical de laboratoire de bactériologie au niveau de CHU de Constantine qui nous ont soutenues et aidées de près ou de loin pour la réussite de ce travail.

Ces remerciement ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Remerciement	i
Table de matières	ii
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des abréviations	vii
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

1. Définition et taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
1.1 Etude bactériologique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
1.1.1 Morphologies	3
1.1.2 Caractères cultureux	4
1.1.3 Caractères biochimiques	4
1.1.4 Caractères structuraux	4
1.1.5 Caractères antigéniques	5
1.1.6 Caractère Génomique	5
1.2 Habitat et transmission	6
1.3 Les facteurs de virulence.....	7
1.3.1 Facteurs impliqués dans la colonisation de l'hôte	9

1.3.2 Les facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> impliqués dans l'infection chronique	12
2. Pouvoir pathogène.....	14
3. Résistance aux Antibiotiques	15
4. Diagnostic biologique.....	16
4.1 Prélèvement.....	16
4.2 Culture	19
4.3 Identification	19
4.4 Antibiogramme	21
5. Bases du traitement	22

Matériel et méthodes

1. Lieu et durée du stage	25
2. Matériel biologique	25
3. Examen bactériologique	25
3.1 Examen direct à l'état frais	25
3.2 Examen microscopiques après coloration	26
4. Mise en culture	27
4.1 Ensemencement	27
4.1.1 Ensemencement des milieux solides	27

4.1.2	Ensemencement des milieux liquides	28
5.	Identification biochimique	29
5.1	Principaux tests d'orientation	29
5.2	Galerie biochimique	31
6.	Sérotypage	37
7.	Antibiogramme	38

Résultats et discussion

	Etude prospective.....	42
1.	Identification bactériologique.....	42
1.1	Caractères morphologiques	42
1.2	Caractères cultureux.....	43
1.3	Caractères biochimiques.....	43
1.4	Antibiogramme	46
	Etude globale (rétrospective et prospective).....	48
1.	Répartition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
1.1.	Répartition des isolats de <i>P. aeruginosa</i> selon le sexe des patients	48
1.2.	Répartition des isolats de <i>P. aeruginosa</i> selon l'activité du service.....	49
1.3.	Répartition des souches de <i>P. aeruginosa</i> selon le type de prélèvement.....	50
2.	Résistance aux antibiotiques.....	51

2.1. Taux de résistance selon le service	52
2.1.1 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de réanimation	53
2.1.2 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de chirurgie	54
2.1.3 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de médecine	55
2.1.4 Taux de résistance aux antibiotiques chez les patients en consultation externe	56
2.2. Phénotypes de résistance aux Bêtalactamines des isolats de <i>P. aeruginosa</i>	57
Conclusion	58
Références bibliographiques	59
Résumé	
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 :	Image tridimensionnelle généré par ordinateur (3D) <i>P. aeruginosa</i>	3
Figure 2 :	La carte génomique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Figure 3 :	Structure du flagelle bactérie	8
Figure 4 :	Structure du lipopolysaccharide	8
Figure 5 :	Principaux facteurs de virulence chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les interactions avec l'hôte.....	13
Figure 6 :	Les étapes de l'examen à l'état frais	26
Figure 7 :	Les étapes de la coloration de Gram	27
Figure 8 :	L'étape de purification sur un milieu gélosé solide	28
Figure 9 :	L'étape d'ensemencement sur un milieu liquide	29
Figure 10 :	L'appareil Walk-away® de Siemens	37
Figure 11 :	L'observation microscopique d'un frottis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> après coloration de Gram d'un (objectif 100X)	42
Figure 12 :	Aspect des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur milieu (Hektoen).....	43
Figure 13 :	Résultat négatif sur milieu rouge mannitol	44
Figure 14 :	Résultats négatif sur milieu urée-indole	44
Figure 15 :	Résultats positif sur milieu citrate.....	44
Figure 16 :	Résultats négatif sur gélose TSI	44
Figure 17 :	Résultats de test de la catalase	45
Figure 18 :	Résultats des tests d'oxydase	45
Figure 19 :	Les zones d'inhibition des antibiotiques testés	46

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
Tableau 2 :	Mini galerie biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Tableau 3 :	Caractères biochimiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Tableau 4 :	Pourcentage de résistance des antibiotiques.....	47
Tableau 5 :	Répartition selon le sexe des patients	48
Tableau 6 :	Répartition selon l'activité du service	49
Tableau 7 :	Répartition selon le type de prélèvement.....	50
Tableau 8 :	Taux de résistance aux antibiotiques	51
Tableau 9 :	Taux de résistance aux services de réanimation	53
Tableau 10 :	Taux de résistance au service de chirurgie	54
Tableau 11 :	Taux de résistance aux services de médecine.....	55
Tableau 12 :	Taux de résistance chez les patients en consultation externe.....	56
Tableau 13 :	Phénotypes de résistance aux Bêtalactamines des isolats de <i>P. aeruginosa</i>	57

Liste des abréviations

AHL	: Acyle-homosérine lactones
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADH	: Arginine dihydrolase
ADP	: Adenosine diphosphate
AmpC	: Céphalosporinase chromosomique de type C
ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
ATB	: Antibiotique
BPCO	: Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive
BBT	: Bleu de bromothymol
BGN	: Bactérie à Gram négatif
BCC	: Bouillon cœur-cervelle
BMR	: Bactéries multi-résistantes
BLSE	: Bêtalactamases à spectre étendu
CLSI	: The Clinical and Laboratory Standards Institute
CHN	: céphalosporine de haut niveau
CHU	: Centre Hospitalo-Universitaire
CO₂	: Dioxyde de carbone
ECBU	: Examen cyto bactériologique des urines
EPS	: Exopolysaccharides
ECF	: Extra Cytoplasmique Function

ETA : Exotoxine A

Exo : Exoenzyme

EDTA : Ethylene DiamineTetracetic Acid

Fpv : Respteur membrnaire de la Ferri-pyoverdine

H₂S : Sulfure d'hydrogène

I : Intermédiaire

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IL-8 : Interleukine 8

IATS : International Antigenic Typing System

IST : Les infections sexuellement transmissibles

kDa : kilo Dalton

L : Large

Las : élastase

LPS : Lipopolysaccharides

LCR : Liquide Céphalorachidien

M : Muqueuse

N₂ : Azote

MH : Mueller-Hinton

ORL : Oto-rhino-laryngologie

pH : Potentiel hydrogène

PLC : Phospholipases C

PQS : Signal Pseudomonas quinolone

Prpl : protéase IV

PSE-1 : Premiers secours en équipe de niveau 1

QS : quorum sensing

R : Résistant

RP : Rouge de phénol

RM : Rouge de méthyle

RPDP : Rinçage Prélèvement Distal Protégé

S : Sensible

SST3 : système de sécrétion de type 3

TDA : Tryptophane-Désaminase

Trp : Tryptophane

TSI : Triple Sugar Iron

USI : Unité de Soins Intensifs

°C : Degré Celsius

3D : tridimensionnelle générée par ordinateur

µm : Micro mètre

β-NAD : Beta-Nicotinamide adenine dinucleotide

Introduction

Pseudomonas aeruginosa considéré comme un pathogène opportuniste infectant préférentiellement des sujets hospitalisés immunodéficients ou affaiblis : brûlés, cancéreux, malades d'unités de soins intensifs, transplantés, dialysés ou sujets atteints de mucoviscidose... [1].

Pseudomonas aeruginosa, est présente dans le monde entier dans le sol et l'eau. Elles préfèrent les endroits humides, tels que les éviers, les toilettes, les piscines insuffisamment traitées par le chlore, les spas et les solutions antiseptiques périmées ou inactivées. Il arrive parfois que ces bactéries soient présentes au niveau des aisselles et des parties génitales des personnes en bonne santé. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* s'étendent des infections externes mineures à des maladies graves, mettant en jeu le pronostic vital [2].

Cette bactérie possède particulièrement une résistance naturelle à plusieurs classes d'antibiotiques. Cette résistance peut être intrinsèque ou extrinsèque suite à l'acquisition des déterminants génétiques de résistance au fil du temps [3].

Les objectifs de Cette étude sont les suivants :

- Rechercher des souches de *P. aeruginosa* à partir des différents prélèvements provenant des différents services du CHU de Constantine.
- Détermination de profils de résistance aux antibiotiques.

*Synthèse
bibliographique*

1. Définition et taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie versatile et ubiquitaire dans l'environnement.

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) est une bactérie de la famille des *Pseudomonadaceae*. Cette famille renferme dix genres : *Azomonas*, *Azomonotrichon*, *Azorhizophilus*, *Azotobacter*, *Cellvibrio*, *Mesophilobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobacter*, *Rugamonas*, et *Serpens*.

Le genre *Pseudomonas* regroupe 7 espèces :

P. aeruginosa (espèce type), *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas pertucinogena*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri* et *Pseudomonas syringae* [4,5].

La taxonomie de *P. aeruginosa* est présentée dans (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* [5].

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

1.1 Etude bactériologique de *Pseudomonas aeruginosa*

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 contenu par la bactérie qui donne à la colonie sa couleur caractéristique [6].

1.1.1 Morphologies

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, mobile avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité [7,8]. Cette bactérie est non sporulée et peut produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyoverdine (jaune-vert) fluorescente [7, 9, 10] (**Figure 1**).



Figure 1 : Image tridimensionnelle générée par ordinateur (3D) *P. aeruginosa* [11].

1.1.2 Caractères cultureux

Le bacille pyocyanique est une bactérie aux besoins très limités, croissant sur des milieux synthétiques simples et pousse facilement en 24 heures à 37 °C, elle peut croître entre 5 à 42 °C avec un optimum de 30 °C, par contre elle supporte de moindres variations de pH (6 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2 [12].

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie aérobie stricte mais capable d'utiliser les nitrates en conditions anaérobies [13], elle est caractérisée par une odeur florale [14].

En bactériologie médicale, trois types de colonies peuvent être observés simultanément ou de manière isolée sur milieux solides [15] :

- Colonies larges "la" de 2 à 3 mm de diamètre à bord irrégulier rugueuses avec une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques.
- Colonies plus petites lisses "S" bombées à bord régulier.
- Colonies muqueuses "M" bombées coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère d'alginate.

1.1.3 Caractères biochimiques

Pseudomonas aeruginosa est caractérisé par un métabolisme oxydatif, non fermentaire. Cette bactérie a la capacité de dégrader des composés complexes, tels que les protéines et les polysaccharides comme l'amidon et la cellulose [6,16].

Elle possède aussi un nitrate réductase (réduction des nitrates pouvant aller jusqu'au stade de l'azote gazeux), une arginine-dihydrolase, une lécithinase (qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide) [12].

Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive [17].

1.1.4 Caractères structuraux

La paroi bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* est caractéristique de la paroi des bactéries à Gram négatif. Elle est constituée d'une membrane externe où sont localisés le

lipopolysaccharide (LPS) et les porines et d'un espace périplasmique contenant le peptidoglycane.

La membrane cytoplasmique mesure 2 à 3 nanomètres d'épaisseur, elle contient de nombreux complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien. L'espace périplasmique est un espace de stockage d'enzymes et de nutriments qui participe également à la synthèse des protéines. Les molécules de la membrane externe sont disposées en une bicouche épaisse d'environ 7 à 8 nanomètres, de structure semblable à celle de la membrane cytoplasmique. La protéine la plus abondante est la lipoprotéine de Braun, une petite lipoprotéine attachée par liaison covalente au peptidoglycane sous-jacent et enterré dans la membrane externe par son extrémité hydrophobe. La membrane externe est formée de LPS et de phospholipides, où s'insèrent de nombreuses protéines intrinsèques. Parmi elles, les porines qui sont des protéines transmembranaires formant des pores ou canaux protéiques permettant le passage de solutés et de molécules hydrophiles [18,19].

1.1.5 Caractères antigéniques

Chez *P. aeruginosa* il existe un antigène somatique O thermostable, responsable d'une antigénicité de type O, 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.

Le sérotypage des souches, grâce à des antisérums dirigés contre cet antigène, permet de distinguer 16 sérotypes différents selon la classification de l'IATS (International Antigenic Typing System). Habituellement, 90 à 95% des souches peuvent être typées avec ce système [21].

1.1.6 Caractère Génomique

Le génome de *P. aeruginosa* (**Figure 2**) est le plus grand génome bactérien jamais séquencé. Le chromosome bactérien comprend 6,3 millions de paires de bases, codant pour 5570 gènes, dont la fonction est soit connue avec certitude, soit supposée par comparaison des séquences avec des génomes d'autres espèces bactériennes, soit inconnue. 60 % à 90 % des gènes sont spécifiques de l'espèce, et 10 % à 30 % sont spécifiques du clone bactérien. Le

génomique chromosomique code notamment pour la plupart des facteurs de pathogénicité de, *P. aeruginosa* et pour les multiples protéines conférant la résistance aux différentes classes d'antibiotiques. La proportion de gènes de régulation est la plus importante de tous les génomes bactériens séquencés connus. Outre le chromosome bactérien, *P. aeruginosa* possède de nombreux plasmides transférables par conjugaison ou par transduction.

La taille, la complexité et la variabilité du génome de *P. aeruginosa* reflètent une évolution adaptative de l'espèce lui permettant de survivre dans différents environnements, et explique en partie la fréquence des résistances aux antibiotiques [19 ,22].

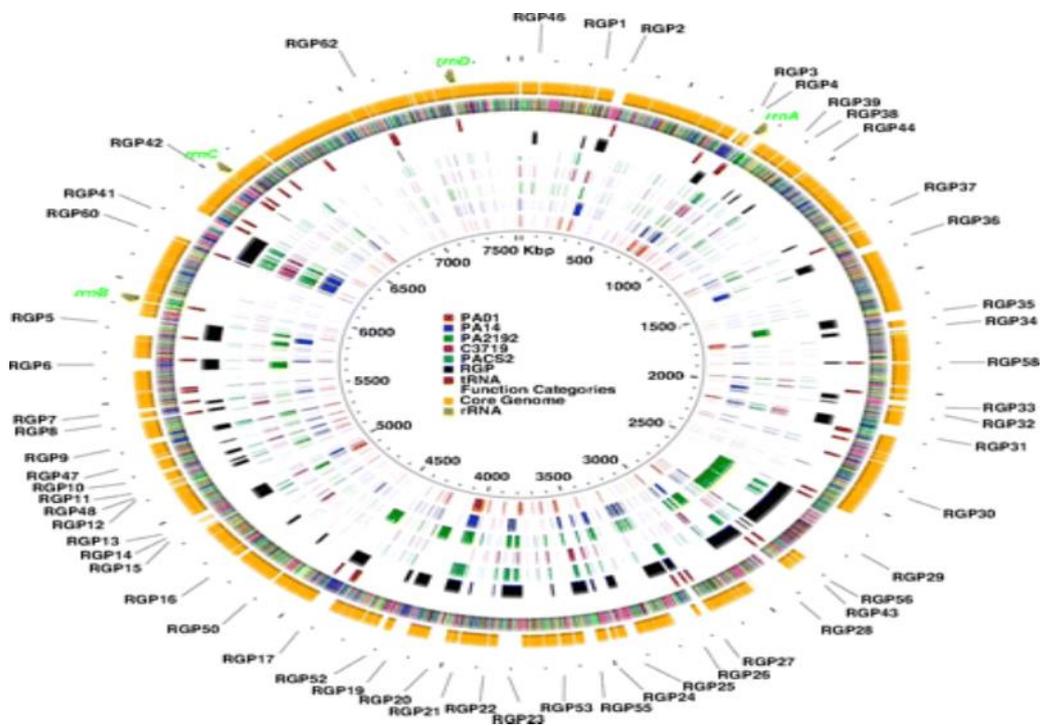


Figure 2 : La carte génomique de *Pseudomonas aeruginosa* [19].

1.2 Habitat et transmission

Pseudomonas aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, elle survit particulièrement dans un milieu humide. En milieu hospitalier *Pseudomonas aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du patient. Les points d'eau, ainsi que le matériel hospitalier peuvent être contaminés par ce micro-organisme. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée. Il a été démontré que les patients et le personnel médical peuvent être des réservoirs et vecteurs potentiels de

Pseudomonas aeruginosa notamment lorsque les mesures générales d'hygiène ont été mal ou non appliquées. Concernant la transmission, elle 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) [23,24, 3].

1.3 Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

La pathogénie de *Pseudomonas aeruginosa* est principalement liée à ses nombreux facteurs de virulence (**Figure 5**) qui sont impliqués dans les différentes étapes du processus infectieux.

Ces facteurs permettent l'adhérence de la bactérie, sa multiplication, sa persistance dans un environnement hostile, la formation de biofilm, son échappement au système immunitaire de l'hôte, ainsi que la production des lésions tissulaires importantes. Les principaux facteurs de virulences peuvent être classés en facteurs membranaires et facteurs extracellulaires (enzymes sécrétées et toxines). Les facteurs cellulaires ou adhésines font partie de la structure de la bactérie. Il s'agit du flagelle et les pili qui participent à la mobilité de la bactérie.

Le flagelle (**Figure 3**) est un appendice polaire unique associé à la nage (Swimming) et les pili de type Iva des appendices multiples responsables d'un mécanisme d'extension rétraction (twitching) permettant un déplacement sur des surfaces plus ou moins solides. Récemment, d'autres structures superficielles ont été mises en évidence, à l'exemple des pili de type IVb [25].

P. aeruginosa présente à sa surface une monocouche compacte de lipopolysaccharide (LPS) (**Figure 4**) recouvrant un feuillet interne de phospholipides. Les molécules de LPS sont composées d'une partie lipidique :

Le lipide A possède des propriétés toxiques correspondant à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif et est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort [26].

Le LPS est peu toxique par lui-même cependant, il peut contribuer à la formation de la réaction inflammatoire. Les chaînes latérales polysaccharidiques de l'antigène O, pourraient

aussi être un moyen de défense de la bactérie contre la phagocytose. En réalité le LPS paraît surtout important indirectement, de par sa fonction antigénique. En effet, les anticorps produits sont protecteurs et cette protection est spécifique du groupe de l'antigène O [27].

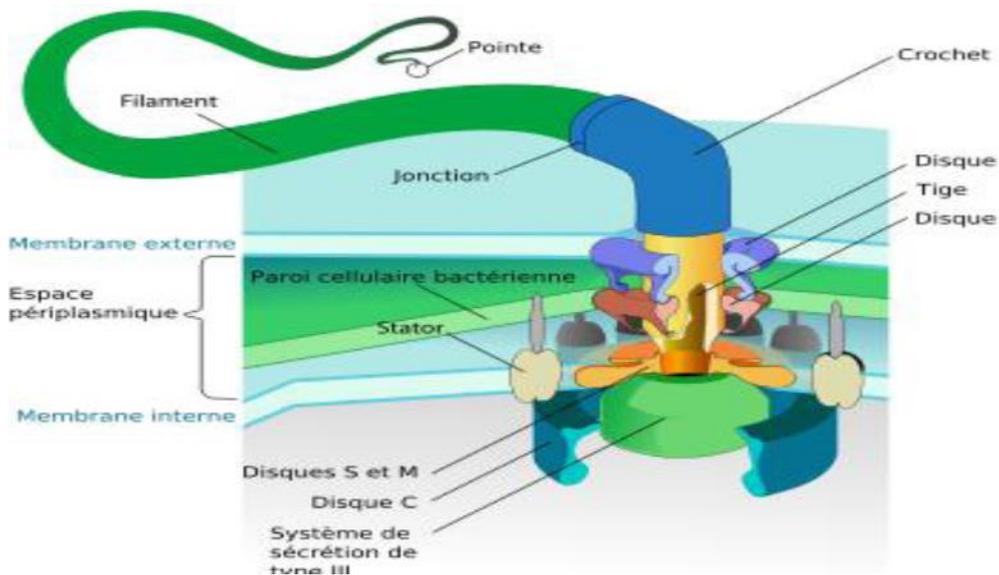


Figure 3 : Structure du flagelle bactérie [28].

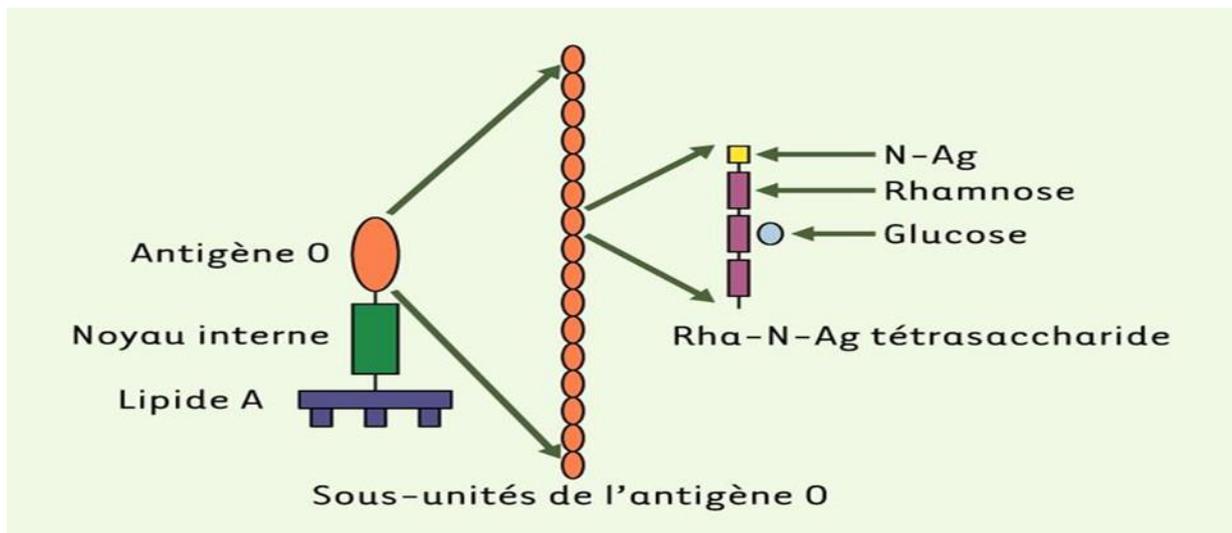


Figure 4 : Structure du lipopolysaccharide [29].

1.3.1 Facteurs impliqués dans la colonisation de l'hôte

1.3.1.1 Facteurs *quorum sensing* dépendants

Chez *P. aeruginosa*, le *quorum sensing* (QS) est considéré comme le principal mécanisme de régulation de la pathogénicité et de l'adaptation écologique [30,31].

Ce système de régulation est fondé sur la capacité des bactéries à communiquer entre elles, ce qui leur permet de coordonner leur comportement et ainsi de fonctionner comme un organisme multicellulaire [32,33 ,34].

La communication bactérienne repose sur la production de phéromones diffusibles, des N-acyl-homoserine lactones (AHL), qui donnent une indication de la densité cellulaire dans un environnement donné. Ces AHL sont synthétisés par une AHL-synthase qui est codée par un gène de type « I » (inducteur). Lorsque la concentration de ces molécules diffusibles atteint un certain seuil, elles se lient au régulateur transcriptionnel de Type (R) [34,35].

Le complexe ainsi formé va activer la transcription de gènes cibles dits de virulence mais également du gène « I », d'où le terme de molécules auto-inductrices [34 ,36 ,37].

Six à 10 % des gènes de *P. aeruginosa* qui codent pour des protéines impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux ou dans la virulence sont ainsi régulés par le

« *quorum sensing* ».

À ce jour, trois systèmes du (*quorum sensing*) [36,38, 39] ont été caractérisés chez

P. aeruginosa :

Il s'agit de LasR/LasI, de RhlR/RhII et le 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone, dénommée aussi *signal Pseudomonas quinolone* (PQS), qui contrôlent de nombreux facteurs de virulence [36, 34, 38, 39].

a. L'exotoxine A

C'est une toxine sécrétée par *P. aeruginosa* agissant par le biais d'un récepteur. Sa structure comprend trois domaines et sa virulence s'exprime surtout par le blocage de la synthèse protéique au niveau des cellules cibles provoquant ainsi leur mort [40, 41].

b. Hémolysines

Deux hémolysines sont produites :

-**Le rhamnolipides** est une substance non enzymatique et non antigénique. Il s'agit d'un composé cytotoxique qui inhibe la motilité des cils vibratiles trachéaux, perturbe le transport des ions et augmente la libération de mucine.

- **La phospholipases C** produit une réaction inflammatoire limitée, œdémateuse, érythémateuse ou hémorragique chez l'animal ressemblant à ce qui s'observe chez l'homme dans certaines formes cutanées d'infection à *P. aeruginosa* [42].

c. La pyocyanine

La pyocyanine est un pigment bleu sécrété par la bactérie, qui est impliqué dans de nombreux mécanismes pathogènes [34, 43 44]. Elle réprime la réponse immunitaire de la cellule Hôte, il augmente la production d'interleukine IL-8 [34, 45]. La pyocyanine à un rôle crucial dans la virulence de *P. aeruginosa*. La pyocyanine oxyde le glutathion et inactive la catalase dans les cellules épithéliales respiratoires et les cellules endothéliales, participant ainsi au stress oxydatif et entraînant une nécrose du tissu respiratoire [34, 46, 47].

Récemment, il a été démontré que la pyocyanine inactive l'ATPase vacuolaire et le transport mitochondrial, ce qui a pour conséquence une détérioration des canaux chlorure au cours de la mucoviscidose [34, 43, 44].

d. La pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore, une petite molécule de chélation du fer de l'environnement nécessaire au métabolisme de *P. aeruginosa*. La pyoverdine joue un rôle

Régulateur dans la sécrétion de certains facteurs de virulence (exotoxine A, des protéases) ainsi que sa propre sécrétion [34, 45,48, 49].

e. Les protéases

P. aeruginosa produit des enzymes protéolytiques : l'élastase (Las A et Las B), la protéase alcaline, la collagénase et la caséinase. L'élastase a une spécificité très large de substrat : l'élastine du tissu pulmonaire, la laminine, les collagènes et les protéoglycanes.

Leurs actions se combinent, expliquant les destructions tissulaires observées lors d'une infection. Ces protéases ont deux intérêts pour *P. aeruginosa* : la destruction des barrières à l'invasion et la mise à disposition de nutriments favorisant sa croissance [42].

1.3.1.2 Facteurs quorum sensing indépendants

Le système de sécrétion de type III (SST3) participe au relargage d'effecteurs directement dans le cytoplasme des cellules eucaryotes à l'aide d'une structure en forme d'aiguille appelée l'injectisome. Quatre effecteurs de type III (SST3) exo enzyme S (exo S), exo enzyme T (exo T), exo enzyme U (exo U), et exo enzyme Y (exo Y) ont été caractérisées chez *P. aeruginosa*.

L'Exo S et T sont des protéines bifonctionnelles. Elles inhibent la mobilité, la phagocytose permet l'internalisation de *P. aeruginosa* par les cellules épithéliales qui provoquent une désorganisation du cytosquelette et peuvent aussi moduler la réponse immunitaire et inflammatoire de l'hôte.

L'Exo U est une exo enzyme à activité phospholipase A2. Sa toxicité est 100 fois plus grande que celle de l'exo S. Elle procède à la dégradation de la membrane cellulaire. Cette lipase entraîne donc une mort nécrotique des cellules eucaryotes.

L'Exo Y est une adénylate cyclas, sa translocation dans les cellules cibles provoque une augmentation du niveau intracellulaire d'ampc, induisant un changement de la morphologie de ces cellules qui deviennent arrondies ce qui engendre la formation de trous intercellulaires et aboutit à la détérioration des cellules endothéliales pulmonaires [25, 34,50].

1.3.2 Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa* impliqués dans l'infection chronique

Dès que la bactérie a réussi à s'implanter, elle devra y survivre et ce malgré la présence des défenses de l'hôte innées et acquises, et d'évènements répétés d'antibiothérapie topique et systémique. Pour réussir ceci, *P. aeruginosa* devra développer une importante gamme de stratégies immuno-évasives incluant entre autres des protéines à action extracellulaires : des protéases, des lipases, une phospholipase C hémolytique et des exo enzymes à activité ADP ribosyltransférase. La sécrétion de ces produits extracellulaires sera accompagnée d'importants changements phénotypiques dépendant du système du quorum sensing, Comme la mucosité et la formation d'un biofilm, menant à une résistance accrue aux antibiotiques [34].

a. les sidérophores

Après sa sécrétion, le sidérophore chélate le fer dans l'environnement extracellulaire.

Le complexe moléculaire résultant, le Ferri-sidérophore, est ensuite transporté à l'intérieur du cytoplasme via des récepteurs membranaires spécifiques pour ces complexes.

Aeruginosa produit un sidérophore majeur appelé pyoverdine. La pyoverdine chargée de fer est transportée via le récepteur membranaire *FpvA*. La pyoverdine peut également agir comme molécule de signalisation induisant la sécrétion de deux autres facteurs de virulence : l'exotoxine A et l'endoprotéase *PrpL* (protéase IV). L'interaction de la Ferri-pyoverdine avec *FpvA* traduit un signal transpériplasmique via *FpvR*, un facteur anti-sigma, qui à son tour provoque l'activation du facteur sigma de type ECF (Extra Cytoplasmique Fonction), *PvdS*, le régulateur transcriptionnel clé du métabolisme du fer chez *P. aeruginosa* [34].

b. Les alginates et formation de biofilm

Parmi les bactéries pathogènes responsables des infections bronchiques, certaines souches se développent au sein d'un biofilm, l'architecture est composée de microcolonies enchâssées dans une matrice d'exo polysaccharides (EPS) et formant des structures en forme de champignons spécifiques de l'infection. Cette couche de biofilm protectrice, signe d'une installation durable des bactéries aux structures contaminées, gêne la pénétration des antibiotiques et permet une résistance à la phagocytose et aux anticorps. Trois étapes peuvent être distinguées dans la formation du biofilm : une étape initiale d'attachement des cellules planctoniques à une surface biotiques ou abiotiques, qui commence comme un processus réversible, qui devient alors irréversible. L'étape suivante est une étape de prolifération aboutissant à la formation de microcolonies. Ces structures sont impliquées dans la production d'alginate et la maturation du biofilm finalement une étape de Structuration du biofilm. Cette architecture s'ajoute encore à l'obstruction et à la viscosité des poumons atteints de la mucoviscidose [34].

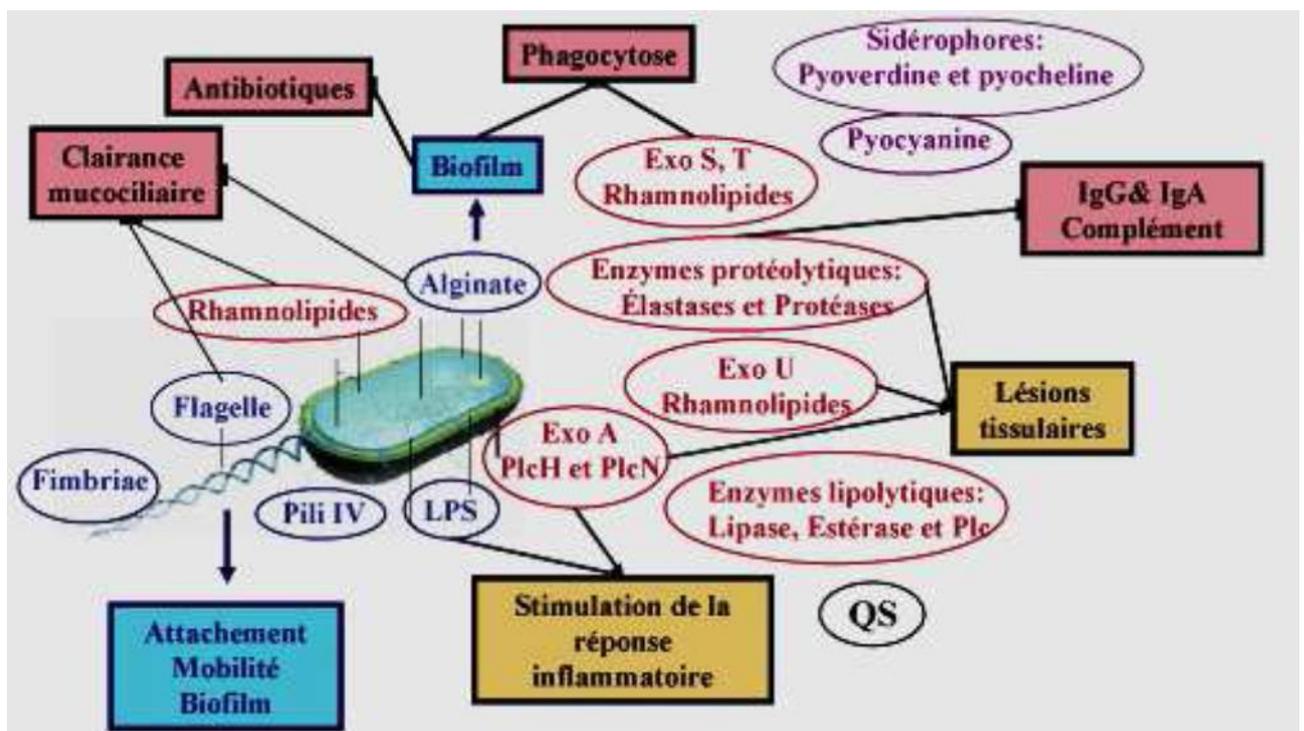


Figure 5 : Principaux facteurs de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* et les interactions avec l'hôte [3].

2. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est peu virulent pour l'individu normal, le bacille pyocyanique est en revanche un agent infectieux redoutable lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées. *P. aeruginosa* est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste.

Les malades particulièrement sensibles sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (diabète), hématologiques ou cancéreuses et traitements immunosuppresseurs. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité.

P. aeruginosa est une bactérie invasive et toxigène. Parmi les infections les plus importantes nous trouvons :

➤ Les infections respiratoires

Patients intubé et ventilés en particulier dans les services de réanimation et soins intensifs (facteur de risque surajouté). Patients avec pathologies pulmonaires chroniques : BPCO (Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive), Mucoviscidose ... Dans ce dernier cas, l'isolement des souches hyper-muqueuses devient de plus en plus fréquent avec l'âge et l'éradication de plus en plus difficile. C'est un élément de mauvais pronostic.

➤ Infections oculaires

De type kératite, endophtalmie et panophtalmie, Les collyres ou les solutions pour lentilles de contact contaminées ou même l'eau du robinet peuvent entraîner des infections superficielles de l'œil. Les infections sont rares mais elles sont gravissimes. La panophtalmie (fonte purulente de l'œil) est une complication redoutable de la chirurgie ou des investigations ophtalmologiques.

➤ Infections oto-rhino-laryngologiques

L'otite externe banale s'observe en particulier chez les nageurs en raison de la prédilection de la bactérie pour les milieux humides, mais également en zone tropicale ou après un traumatisme. Une forme d'otite externe à bacille pyocyanique a été décrite sous le terme « d'oreille des plongeurs », *P. aeruginosa* est en cause également dans les

périchondrites du pavillon. L'otite maligne externe à bacille pyocyanique a pu être observée chez les diabétiques âgés, les nouveau-nés, les Infections cutanées des sidéens. Chez le sujet sain, on peut observer un onyxis, avec périonyxis réalisant l'ongle vert ainsi que des infections cutanées comme des folliculites lors d'un contact avec une eau très contaminée, chez les sujets fragilisés nous pouvons retrouver l'ecthyma gangrenosum (Leucémique).

➤ Autres infections : infections urinaires, infection du sujet brûlé, infections ostéo-articulaires, infection sur prothèses, infections du site opératoire, infections neuroméningés, Entérites, Bactériémies... [50].

3. Résistance aux Antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelle générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se (défendre) contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques [51].

Le nombre d'antibiotiques actifs contre le *P. aeruginosa* est limité. Ce dernier possédant une résistance naturelle à un certain nombre d'antibiotiques. La résistance naturelle est caractéristique d'une espèce bactérienne ; elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification [3].

La résistance naturelle du bacille pyocyanique relève d'une mauvaise perméabilité de la membrane externe par le nombre restreint de pores perméables formés principalement par la porine oprf et de la production constante d'une bêtalactamase inductible. C'est l'association synergique de l'imperméabilité, des pompes d'efflux et de production de la céphalosporinase inductible ampc spécifique de l'espèce qui expliquent la résistance naturelle à des bêtalactamines habituellement actives sur les bacilles à Gram négatif comme les aminopénicillines ou les céphalosporines dites de première et deuxième génération, mais aussi de troisième génération comme céfotaxime ou ceftriaxone et même certains carbapénèmes (ertapénème). *P. aeruginosa* est également naturellement résistant à la kanamicyne, au chloramphénicol ; aux cyclines (incluant la tigécycline), au triméthoprime, aux quinolones de

première génération et à tous les antibiotiques uniquement actifs sur les bactéries à Gram positif (macrolides, lincosamides, synergystines, acide fucidique, glycopeptides) [52, 53,54, 55,3].

Les antibiotiques habituellement actifs sur le *P. aeruginosa* appartiennent à la famille des bêtalactamines comme les Ceftazidime, les Piperracilline+Tazobactam...et des aminosides comme la Gentamicine, l'Amikacine et tobramycin, en plus les fluoroquinolones (Ciprofloxacine) et des polymyxines.

En plus de sa résistance naturelle, il est capable de développer toute une variété de mécanismes de résistance à ces antibiotiques sont liés soit par des mutations chromosomiques (des mutations, l'imperméabilité, la modification des porines ou soit par l'acquisition de gènes exogènes (pénicillinases, carbapénèmes) qui sont importer par des plasmides et des bactériophages [56,3].

4. Diagnostic biologique

Il est fondé sur l'isolement de la bactérie au site de l'infection. Le contexte clinique aidera à distinguer l'infection de la simple colonisation [57].

4.1 Prélèvement

Les prélèvements permettant de mettre en évidence *Pseudomonas aeruginosa* responsable d'une infection dépendent du site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques comme le liquide pleural dans lesquels la bactérie ou des antigènes bactériens peuvent être détectés. Ces prélèvements sont soit de consistance liquide (urine, liquide céphalorachidien, liquides d'épanchement, etc.) soit de consistance solide (cathéters, drain redons, matériel prothétique, etc). Dans le cas des hémocultures, le prélèvement de sang est directement mis dans un flacon de culture dès sa réalisation [1].

➤ Prélèvements ORL : otite

Prélever avant antibiothérapie :

- Au niveau des zones inflammatoires ou nécrotiques
- A la périphérie des fausses membranes, sur les amygdales
- Eviter de toucher la langue, la luvette et la paroi postérieure du pharynx.

- Le support du prélèvement : 2 écouvillons avec milieu de transport
- Délai maximal d'acheminement des échantillons au laboratoire (en lien avec la conservation pré analytique des échantillons)

Prélèvements sur milieu de transport : 72 heures entre 2 et 8 °C [58].

➤ Prélèvements oculaires

- avant toute toilette faciale
- au niveau de l'angle interne de l'œil
- avec un tampon stérile monté très serré

Plus rarement le prélèvement sera demandé dans le cadre :

* d'une blépharite ; on prélèvera alors les croûtes palpébrales et un ou deux cils à la pince à épiler stérile.

* d'un orgelet qui sera ouvert avec un vaccinostyle stérile pour prélever le pus (à la pipette ou à l'écouvillon).

* d'une dacryocystite qui demande un recueil du pus au niveau des points lacrymaux palpébraux après pression sur les sacs lacrymaux.

* d'un ulcère de cornée, le prélèvement est alors effectué avec un coton monté après anesthésie locale.

Les prélèvements intraoculaires ou périorbitaires ainsi que les trois derniers sont du domaine de l'ophtalmologiste [59].

➤ Prélèvements broncho-pulmonaires

- Crachats : après rinçage de la bouche à l'eau distillée stérile recueillir les premiers crachats matinaux dans un petit pot stérile lors d'un effort de toux (kinésithérapie si besoin).

- Fibro aspiration directe des sécrétions dans les pièges à sécrétions est adressée directement

- Lavage broncho alvéolaire : la fraction de sérum physiologique récupérée après injection dans une bronche segmentaire sera placée dans un gros pot stérile

- Brosse protégée de Wimberley libérée : sera placée dans un petit flacon contenant un ml de Tampon, seul prélèvement non souillé par la flore oropharyngée

- Rinçage d'un cathéter protégé (Brun Buisson) : placé dans un tube stérile et le cathéter lui-même dans un petit flacon contenant un ml de tampon RPDP (Rinçage Prélèvement Distal Protégé) [60].

➤ Prélèvements urinaires

- Utiliser un kit fourni par le laboratoire ou la pharmacie : il contient un flacon stérile sans conservateur, un tube de transfert des urines et une lingette désinfectante
- Recueillir les urines avant toute prise antibiotique
- Se laver les mains soigneusement puis effectuer une toilette intime à l'aide de la lingette désinfectante
- Eliminer le premier jet d'urine dans les toilettes puis recueillir le deuxième jet dans le pot de recueil
- Refermer le pot
- Effectuer le transfert de l'urine dans le tube :
- Placer le flacon et le tube dans le sachet fourni.
- Compléter la fiche de renseignements confidentiels prélèvements urinaires [61].

➤ Prélèvements cutanés

- Nettoyer la lésion, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés
- Rincer
- Utiliser un antiseptique laissé agir une minute
- Rincer avec du sérum physiologique stérile
- Cureter le bord actif
- Ecouvillonner ou aspirer avec une aiguille montée sur une seringue puis rejeter le pus ou l'aiguille dans un tube stérile de 10 ml si assez de matériel [62].

➤ Hémocultures : septicémie, endocardite ...

- Se frictionner les mains à la solution hydro-alcoolique
- Placer le garrot
- Repérer la veine
- Désinfecter le site de ponction avec un produit à base d'alcool : Polyvidone iodée en solution alcoolique ou Chlorhexidine alcool/ Attendre que la zone soit parfaitement sèche
- Désinfecter les opercules des flacons avec le même type de solution
- Se frictionner les mains à la solution hydro-alcoolique, enfiler des gants non stériles, ne plus palper la veine après cette étape
- Prélever en contrôlant le remplissage optimal des flacons.
- Identifier correctement les flacons, le bon de demande en précisant le site de prélèvement et les renseignements cliniques pertinents [63].

- **Remarque**

Tous les échantillons biologiques sont prélevés dans des tubes stériles et doit être identifié le pot et le tube (NOM, PRENOM, DATE DE NAISSANCE, DATE DE PRELEVEMENT) puis transmis au laboratoire le plus rapidement possible.

4.2 Culture

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie peu exigeante, elle pousse sur milieu d'enrichissement, est un milieu sélectif pour les bactéries à Gram négatif comme : Hektoën, Mac Conke, Drigalski, SS ... (présence de sels biliaries qui inhibent les bactéries à Gram positif)

- en cas de prélèvement plurimicrobien (pus) on fait recours à des milieux sélectifs comme Gélose au Cétrimide : gélose sélective qui favorise la pigmentation de *P. aeruginosa*

- Milieux King A et King B favorisant la production des pigments du *P. aeruginosa* (pyocyanine sur le milieu King A et pyoverdine sur le milieu King B) (10% des souches sont non pigmentées et certaines souches produisent un pigment rouge : la pyorubrine) [64].

- **Remarque (le milieu sélectif (cétrimide))**

La gélose *P. aeruginosa* est un milieu sélectif pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas*, soit à partir de prélèvements pathologiques, soit en hygiène (surfaces, matériel chirurgical ou solutions antiseptiques)

La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence d'un ammonium quaternaire (cétrimide) qui inhibe les germes autres que *P. aeruginosa* [65].

4.3 Identification

L'identification bactérienne est essentielle dans le processus d'un examen bactériologique en donnant au clinicien des informations importantes sur la gravité, l'origine ou le traitement d'une infection. Pour cela, elle doit être à la fois fiable et rapide, certaines circonstances l'exigeant.

L'identification bactérienne a concerné d'abord l'inclusion de tests phénotypiques, biochimiques pour la plupart, avec lecture et interprétation intégrées [66].

➤ **Critères d'identification des espèces**

1- Métabolisme respiratoire :

- mise en évidence de la présence ou non d'une oxydase :

Une oxydase désigne une enzyme qui catalyse la fixation de l'oxygène. Les oxydases ont un rôle important dans la respiration cellulaire. Elle qualifie ainsi toute enzyme catalysant une oxydation en utilisant l'oxygène comme accepteur d'électrons [67].

- mise en évidence de la présence ou non d'une catalase :

La catalase est une enzyme présente au sein des cellules de l'organisme (et chez tous les êtres aérobies) qui est constituée de plus de 500 acides aminés. Elle joue un rôle protecteur vis-à-vis de l'hémoglobine (substance présente dans les globules rouges et qui assure le transport de l'oxygène et du gaz carbonique) et de l'ADN en luttant contre l'oxydation du peroxyde d'hydrogène. Pour cela, elle décompose ce peroxyde (ou eau oxygénée) en eau et en dioxygène [68].

- croissance en anaérobiose en présence de nitrates (respiration des nitrates mise en évidence sur la gélatine Legroux ou le milieu mannitol-mobilité-nitrate) ou en présence d'arginine si la souche possède une arginine dihydrolase (ADH).

2- la production de pigments :

- le pigment bleu ou pyocyanine est caractéristique de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (mise en évidence sur milieu King A)

- le pigment vert jaune fluorescent ou pyoverdine est caractéristique de quelques espèces regroupées sous le nom de *Pseudomonas fluorescents* (mise en évidence sur le milieu King B).

Chaque espèce est caractérisée par la nature des substrats carbonés qu'elle est capable d'utiliser [69].

3- L'identification du genre et de l'espèce d'une souche bactérienne doit se poursuivre par la recherche de caractères biochimiques du métabolisme glucidique et protidique, en ensemençant une galerie d'identification : une "galerie" est un ensemble de milieux de culture, pouvant se présenter [70] :

- soit en tubes (macro-galerie)
- soit en système miniaturisé (micro-galerie).

4.4 Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. On place la culture de bactéries en présence des différents antibiotiques et on observe les conséquences sur le développement et la survie de cette dernière. Il existe ensuite trois interprétations différentes :

La bactérie est **sensible à l'antibiotique** : il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour tuer les bactéries et la dose nécessaire est administrable chez l'homme.

La bactérie est **résistante à l'antibiotique** : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est beaucoup trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires majeurs. Un tel antibiotique ne peut donc être utilisé pour traiter l'infection.

La bactérie est **intermédiaire à l'antibiotique** : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est tantôt administrable chez l'homme, tantôt dangereuse. Il faut donc considérer que la bactérie est résistante in vivo, c'est-à-dire dans l'organisme.

L'antibiogramme permet donc au médecin de choisir le meilleur traitement antibiotique individualisé contre la souche bactérienne responsable de l'infection [71].

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques utilisée dans les associations d'antibiotiques bactéricides pour le traitement des infections sévères à *Pseudomonas aeruginosa*. Du fait de résistances naturelles et acquises nombreuses le choix de la β -lactamine à utiliser en thérapeutique est restreint et doit être guidé par l'antibiogramme. Pour l'imipénème, le mécanisme essentiel de résistance est la perte de la

porine D2 alors que les mécanismes enzymatiques (imipénémases) sont exceptionnels en France. Pour les autres β -lactamines, les mécanismes enzymatiques (hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique, pénicillinase acquise essentiellement PSE-1) isolés ou associés, confèrent le plus souvent des résistances de plus haut niveau que les résistances non enzymatiques (dominées par les phénomènes d'hyperexpression des pompes d'efflux membranaire). L'imipénème, la pipéracilline + tazobactam et la ceftazidime sont les β -lactamines qui conservent la meilleure activité in vitro sur *P. aeruginosa* [72].

5. Bases du traitement

a. Curatif

P. aeruginosa possède une résistance naturelle à de nombreuses β -lactamines. Les souches sauvages sont sensibles aux uréido-pénicillines, à certaines céphalosporines de 3e génération (cefsulodine, ceftazidime, céfépime), à l'imipénème. Elles sont sensibles aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Mais l'acquisition de résistance à l'égard de tous ces antibiotiques est fréquemment observée. Le traitement des infections à *P. aeruginosa* pose souvent des problèmes en raison du terrain sur lequel elles surviennent et de la résistance aux antibiotiques qui peut être présente d'emblée ou apparaître en cours de traitement [57].

Le traitement d'une primo-colonisation à *P. aeruginosa* nécessite l'association d'antibiotiques bactéricides par voie IV (bêta-lactamine + aminoside). L'association ciprofloxacine et colistine est également proposée.

Dans l'infection chronique à *P. aeruginosa*, il importe de traiter les poussées de surinfection, le plus souvent par bithérapie associant une β -lactamine anti-pyocyanique à un aminoside par voie IV. Le choix des antibiotiques est fonction du dernier antibiogramme et des réponses thérapeutiques antérieures. En cas de souches multirésistantes, une trithérapie associant la ciprofloxacine per os à la bithérapie peut être utilisée. La colistine par voie IV reste un choix possible dans cette situation.

Le bénéfice de l'antibiothérapie inhalée en traitement systématique programmé de l'infection bronchique chronique à *P. aeruginosa* est confirmé.

L'intérêt de ce traitement d'entretien est de délivrer directement les antibiotiques au site de l'infection endobronchique et de diminuer la toxicité en minimisant l'absorption

systemique. La tobramycine ou la colistine par voie inhalée est utilisée. Des signes même minimes d'aggravation clinique ou fonctionnelle respiratoire doivent faire recourir à une cure d'antibiotiques IV. Les cures systématiques IV trimestrielles gardent une place en cas de difficultés d'observance du traitement inhalé ou chez certains patients mieux stabilisés par les cures IV répétées. Le recours à la ciprofloxacine per os en intercure peut être envisagé [73].

b. Préventif contre les infections nosocomiales

Les infections à *P. aeruginosa* sont presque toujours nosocomiales. Elles imposent à ce titre une enquête épidémiologique. Le sérotypage des souches fournit un premier élément d'information [57]. Et les techniques de biologie moléculaire sont devenues d'outils importants pour le typage de souche.

Les infections nosocomiales sont des infections qui surviennent plus de 48 h après le début de l'hospitalisation et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au début de la prise en charge du patient. Cependant, leur prévention est une préoccupation constante.

Les infections nosocomiales sont le plus souvent liées aux germes du patient. Moins fréquemment, elles peuvent aussi être transmises à partir d'un autre malade, d'un visiteur ou du personnel soignant [74].

Les mesures essentielles pour prévenir ces infections sont :

- Appliquer des mesures d'hygiène rigoureuses : hygiène des mains, utilisation des solutions hydro-alcooliques. Fixer des protocoles de soins pour les différents gestes de soins médicaux et paramédicaux.

- Utiliser du matériel médical stérile ou à usage unique. Améliorer les méthodes de stérilisation et appliquer les bonnes pratiques de désinfection du matériel.

- Détecter les situations à risque et d'épidémies.

- Détection des patients porteurs de germes multi-résistants et mise en place des protocoles pour la prise en charge des situations de colonisation à des germes multi-résistants et des situations épidémiques. Isolement septique et géographique des patients porteurs de

germe multi-résistants, c'est-à-dire isolements des patients porteurs de germes multi-résistants dans des chambres seules, port de sur-blouses lors des visites médicales ou de la famille.

- Encadrement de la prescription d'antibiotiques et création des guides de bonnes pratiques [75].

*Matériel et
méthodes*

1. Lieu et durée du stage

Ce travail a été réalisé au niveau du Service de Microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine.

Il s'agit d'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 deux ans (2017,2018). Et une étude prospective de 3 mois (du 01 mars au 01 juin 2019) portant sur l'identification morphologiques et biochimiques des 167 souches.

2. Matériel biologique (origine des souches)

Nous avons inclus dans l'étude, tous les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* isolés au sein de notre laboratoire durant la période d'études à partir de l'ensemble des prélèvements à visée diagnostique, provenant des divers services de l'hôpital.

3. Examen bactériologique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectuée sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle.

3.1 Examen direct à l'état frais

Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable par la chaleur ou l'alcool à l'objectif x40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la forme, la mobilité des bactéries et leur regroupement, on peut préjuger du type de ciliature de la bactérie (monotriche, peritriche, etc.). L'observation est réalisée par une petite goutte de l'eau physiologique stérile qui est déposée à l'aide de pipette pasteur au centre d'une lame stérile. On prélève une partie d'une colonie bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée et on la dissocie dans la goutte on applique ensuite une lamelle stérile sur la goutte en évitant la formation des bulles d'air (**Figure 6**).



Figure 6 : Les étapes de l'examen à l'état frais [76].

3.2 Examen microscopiques après coloration

Les techniques les plus communément utilisées au laboratoire de bactériologie médicale font appel à des colorations. La préparation est fixée sur une lame puis colorée. Plusieurs types de coloration existent.

A. Coloration non différentielle – coloration au bleu de méthylène

La coloration au bleu de méthylène c'est une coloration simple et rapide qui permet d'apprécier la morphologie des bactéries et leur mode de groupement en plus la présence de cellules. Cette méthode se fait par une préparation d'un frottis, puis en réalisant la coloration de bleu de méthylène :

- Nous avons coulé la solution de bleu de méthylène sur le frottis pendant 1 minute
- Ensuite nous avons rincé la lame à l'eau du robinet, séchée entre deux feuilles de papier buvard
- Puis nous avons observé à l'immersion l'objectif x100.

B. Coloration différentielle – coloration de Gram

La coloration de Gram est reposée sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Figure 7**).

Cette coloration est réalisée sur un frottis correctement fixé :

- Nous avons recouvert totalement la lame de violet de gentiane pendant 1 min
- Nous avons rincé à l'eau en transvasant les lames
- Nous avons recouvert le frottis par le Lugol pendant 1 min
- Nous avons lavé à nouveau à l'eau ;

- Puis nous avons ajouté l'alcool jusqu'à la disparition de la couleur violette pendant une dizaine de secondes et on lave rapidement à l'eau
- Puis nous avons coloré à nouveau avec la solution de fuchsine diluée pendant 1 min.
- Nous avons lavé à l'eau et séché à l'air
- A la fin nous avons Observé à l'objectif X100, à l'aide d'huile d'immersion.

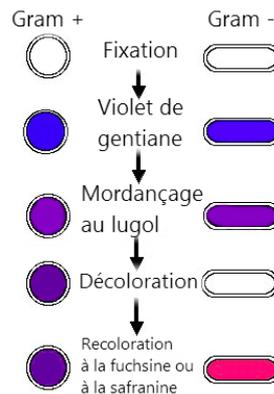


Figure 7 : Les étapes de la coloration de Gram [77].

4. Mise en culture

4.1 Ensemencement

L'ensemencement doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuses à partir d'un prélèvement d'une colonie à partir de culture ou d'un bouillon bactérien avec une anse de platine ou une pipette pasteur, c'est une méthode qui permet d'obtenir des colonies pures, peut être réalisé sur un milieu liquide ou solide.

4.1.1 Ensemencement des milieux solides

C'est la technique des quatre quadrants qui consiste à disperser la colonie bactérienne sur la surface d'une gélose nutritive (GN), gélose Hektoen (milieu sélectif pour BGN) et gélose au sang cuit (gélose chocolat) par étalement afin d'obtenir des colonies séparées et permet de vérifier la pureté d'une souche bactérienne.

- **Technique**

Sur boîte de pétri préalablement séchée sur laquelle on a dessiné des quadrants, déposer la colonie bactérienne sur le 1^{er} quadrant, réaliser des stries très serrées ensuite passer au 2^e sans toucher le 1^{er}, les stries doivent être toujours serrées ensuite passer au 3^e et au 4^e quadrant en desserrant légèrement les stries, la culture se traduit par des colonies sur les stries. On l'incube les boîtes 24 heures à 37°C dans l'étuve (**Figure 8**).

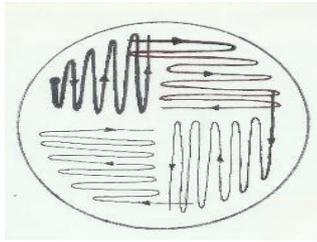


Figure 8 : L'étape de purification sur un milieu gélosé solide [78].

4.1.2 Ensemencement des milieux liquides

Parmi les milieux liquides d'enrichissement les plus utilisés le bouillon nutritif et le bouillon cœur-cerveaux « BCC ». Ces milieux peuvent également être utilisés pour favoriser le développement des bactéries.

- **Technique**

On peut ensemencer un milieu liquide (**Figure 9**) :

- soit à partir d'un produit liquide, nous avons mis quelques gouttes dans le milieu à ensemencer avec pipette de pasteur
- soit à partir d'un produit solide, écraser la colonie prélevée à l'aide d'une anse de platine ou pipette de pasteur sur la paroi du tube, pour obtenir une suspension homogène

Après on incube les tubes 24 heures à 37 °C dans l'étuve.

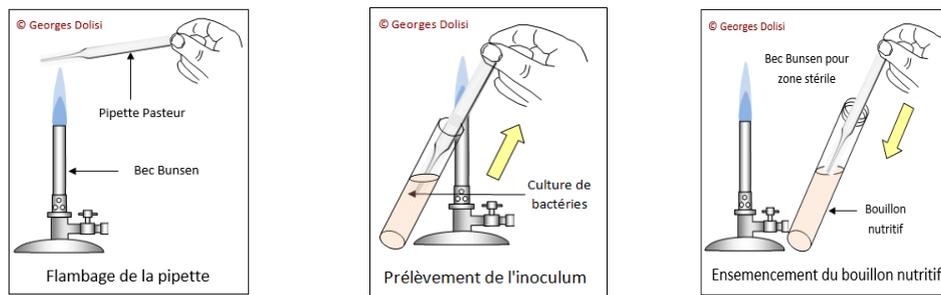


Figure 9 : L'étape d'ensemencement sur un milieu liquide [79].

5. Identification biochimique

En fonction de l'aspect morphologique des colonies bactériennes, de la morphologie des bactéries après coloration, de leur pigmentation, de leur odeur, nous sommes orientés vers une famille bactérienne ou un genre bactérien en particulier. Nous pouvons le cas échéant compléter sa présomption de genre bactérien par des tests d'orientation (catalase et oxydase). Néanmoins, les identifications précises des espèces bactériennes font appel pour les bactéries d'intérêt médical les plus communes à des galeries d'identification biochimique manuelles ou pouvant être lues sur des systèmes automatisés Walk-Away® (Siemens) sont parmi les plus courants. Un certain nombre d'épreuves biochimiques de base sont utilisées dans l'élaboration des galeries d'identification des souches bactériennes.

Après avoir rappelé les tests d'orientation (catalase et oxydase), un certain nombre d'épreuves métaboliques sont détaillées. Celles-ci concernent principalement le métabolisme glucidique, le métabolisme protéique et le métabolisme lipidique. Des tests d'agglutination viennent compléter l'identification bactérienne dans certains cas [57].

5.1 Principaux tests d'orientation

A. Recherche de la catalase

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction : $H_2O_2 == H_2O + 1/2 O_2$

Techniques

- Sur une lame propre et sèche nous avons déposée une goutte eau oxygénée
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, nous avons ajouté l'inoculum bactérien
- Nous avons observé immédiatement.

- **Résultats**

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène = catalase positif
- Pas de bulles = catalase négatif.

B. Recherche d'un cytochrome oxydase

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase.

Techniques

Le réactif peut se trouver sous deux formes :

- soit en solution : sur une lame de verre, nous avons déposé un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution fraîchement préparée de réactif
- soit sous la forme d'un disque pré-imprégné par le réactif

Dans les deux cas, écraser avec une effilure de pipette Pasteur une colonie de germes à étudier sur ce papier (instrument n'oxydant pas le réactif).

- **Résultats**

- Si la colonie prend une teinte violette. Le germe possède une oxydase = le test est positif
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase = le test est négatif.

5.2 Galerie biochimique

Après l'isolement et l'identification des caractères cultureux de *Pseudomonas*, nous avons réalisés la mini galerie biochimique classique pour mettre en évidence les caractères biochimiques de cette bactérie. Pour chaque souche, préparer d'abord la suspension en mettant une colonie prélevée de la boîte de pétri après repiquage dans 5 ml d'eau physiologique.

Les milieux d'identification suivants ont été utilisés :

A. Milieu mannitol-mobilité nitraté

- **Principe**

Le mannitol est un polyalcool issu de la réduction du D-fructose. Sa dégradation conduit à la formation de fructose qui est attaqué en donnant des acides à chaînes courtes (acide méthanoïque, acide éthanoïque...).

Il permet de lire :

- **La fermentation du mannitol** : les bactéries mannitol + acidifient le milieu qui vire au jaune (teinte acide du rouge de phénol). L'acidification produite par les bactéries aérobies strictes est en général insuffisante pour permettre le virage du rouge de phénol du fait de l'importance du pouvoir tampon du milieu. Ce milieu convient donc mieux à l'étude des bacilles à Gram négatif fermentatifs.

- **La mobilité** : du fait de la faible teneur en agar du milieu, les bactéries mobiles peuvent s'y déplacer.

- **Technique**

- Nous avons ensemencé par piqûre centrale à l'aide du fil droit chargé de suspension de la culture à étudier, incubé 24 heures à 37 °C.

- **Résultats**

Mannitol

-Virage au jaune du RP (Rouge de phénol) et acidification, fermentation du mannitol : souche mannitol positif

-Absence de virage du RP au jaune (reste rouge) et absence d'acidification : souche mannitol négatif.

Mobilité

- Culture dans toute la gélose (trouble) et diffusion de la souche à partir de la piqûre : souche mobile

- Culture le long de la piqûre seulement et pas de diffusion de la souche : souche immobile.

B. Milieu citrate de Simmons

- **Principe**

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate. Seules les bactéries capables d'utiliser le citrate pourront cultiver sur ce milieu. Sachant que le citrate est utilisé selon la réaction : Citrate + 3 H₂O == acide citrique + 3 OH

- L'utilisation du citrate s'accompagnera d'une alcalinisation mise en évidence par le bleu de bromothymol.

- **Technique**

- Nous avonsensemencé la pente selon une strie longitudinale avec une pipette chargée de suspension (préparée à partir d'une culture sur milieu gélosé, en prenant soin de ne pas râcler le milieu pour ne pas apporter d'éléments nutritifs susceptibles de fausser les résultats)

- Etuver 24h à 37 °C, sans trop visser le bouchon.

- **Résultats**

- Culture et virage au bleu du BBT (bleu de bromothymol) et alcalinisation : la souche est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone : souche citrate de Simmons positif

- Absence de culture et absence de virage du BBT et absence d'alcalinisation : la souche n'est pas capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone : souche citrate de Simmons négatif.

C. Milieu Triple Sugar Iron

- **Principe**

La gélose Triple Sugar Iron (TSI) 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.

- **Technique**

- Nous avons pris quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou une anse de platine

- Nous avons ensemencé le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées et incubé à 37 °C pendant 24 heures.

- **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'H₂S se traduit par le noircissement de la zone séparant le culot de la pente ou au niveau du culot (H₂S 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. Milieu urée-indole

La recherche d'une uréase s'effectue en milieu urée-tryptophane (improprement appelé milieu urée-indole). Ce milieu contient du tryptophane, de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH. L'urée, sous l'action d'une uréase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium alcalin entraînant une coloration rose-rouge du milieu. Ce milieu ne permet pas la croissance bactérienne. Il permet également la recherche d'un tryptophane désaminase [15].

Le milieu urée-indole contient :

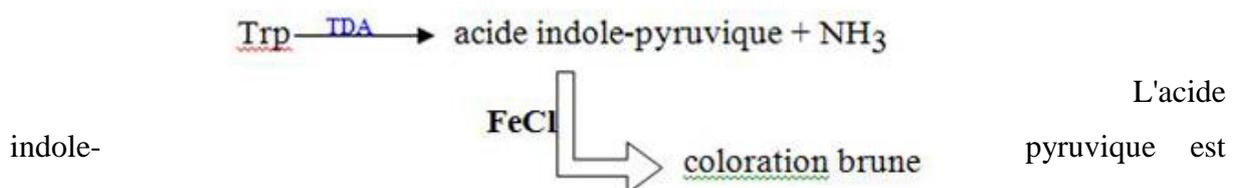
-De l'urée : recherche de l'uréase

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate.

-Le carbonate d'ammonium (CO₃(NH₄)₂) va alcaliniser un milieuensemencé avec une souche uréase +. L'alcalinisation est mise en évidence grâce au rouge de phénol présent.

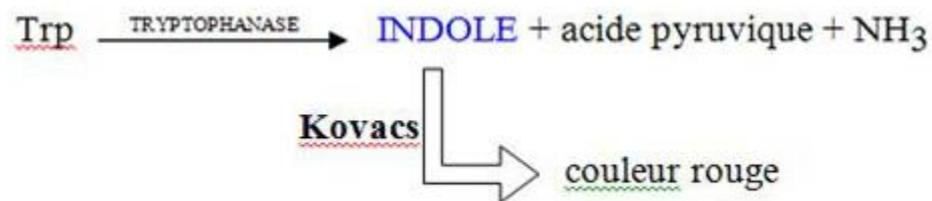
-De tryptophane : recherche du tryptophane désaminase (TDA)
recherche de la production d'indole

Le tryptophane désaminase (TDA) est une enzyme qui dégrade (désamination) le tryptophane en acide indole-pyruvique et NH₃ :



mis en évidence grâce à la coloration brune caractéristique qu'il donne avec le perchlorure de fer (FeCl_3).

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 [80].



• Technique

- Nous avonsensemencé abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier, incubé 24 heures à 37 °C

-Lecture de l'uréase : directe

-Lecture de l'indole : sur le milieu restant, ajouter 3 gouttes de réactif de Kovacs nXnf.

• Résultats

➤ **Uréase** (lecture directe)

- virage du RP au rose fuschia (rouge) et alcalinisation, souche uréase positif

- pas de virage du RP et pas d'alcalinisation, souche uréase négatif (vérifier que la suspension est assez dense).

- **Remarque**

L'alcalinisation du milieu peut se faire très vite pour certaines bactéries. Cette particularité est utilisée pour le test de l'uréase rapide (1h à 4h).

➤ **Indole**

-anneau rouge et présence d'indole issu de la dégradation du Trp (tryptophane) par la tryptophanase, souche indole positif

- absence d'indole issu de la dégradation du Trp par la tryptophanase, souche indole négatif.

❖ **Automate d'identification bactérienne**

Actuellement, les tests biochimiques d'identification sont effectués plus souvent sur des automates. Ces automates permettent également la réalisation des antibiogrammes en milieu liquide pour la plupart des germes courants. Les tests utilisés correspondent à la plupart de ceux précédemment décrits avec l'utilisation, en fonction des utilisateurs et des versions d'automates de substrats conventionnels, de substrats chromogéniques, fluorescents ou fluorogéniques, de carbohydrates couplés à une lecture colorimétrique, turbidimétrique ou fluorimétrique, etc. Les méthodologies utilisées dépendent des fabricants. Les appareils Walk-away® de Siemens permettent d'identifier de manière globalement un nombre similaire de taxons [57] (**Figure 10**).

En fonction des fabricants, ces automates permettent, de façon indépendante de l'identification ou conjointe, de tester la sensibilité des bactéries identifiées aux antibiotiques.



Figure 10 : l'appareil Walk-away® de Siemens.

6. Sérotypage

• Principe

Le sérotypage est une technique immunologique qui consiste en la mise en évidence d'antigènes structuraux bactériens et permet l'identification de sérotypes.

Le test repose sur l'agglutination, par des sérums spécifiques, de bactéries possédant les antigènes correspondants. Les antisérums de *P. aeruginosa* sont destinés à l'identification sérologique de *P. aeruginosa* par la méthode d'agglutination sur lame, à des fins épidémiologiques [81].

• Technique

Le sérotypage est effectué, après identification de l'espèce, à partir d'une culture pure et fraîche de *P. aeruginosa* isolé sur milieu gélosé.

- Nous déposer sur une lame propre une goutte de sérum

- Nous avons prendre avec l'anse de platine flambé et refroidie une colonie de *P. aeruginosa* et la mélanger avec le sérum d'une manière homogène

- Nous avons agité la lame par mouvements lents et circulaires

- Nous avons observé l'apparition d'agglutinats fins, granulaires et difficiles à dissocier (s'aider éventuellement d'un fond noir ou d'une loupe pour une meilleure visualisation des agglutinats)

- La souche est d'abord agglutinée avec les sérums polyvalents en cas d'agglutination continué avec les sérums monovalents correspondants au sérum polyvalent positif.

• Lecture

L'apparition d'une agglutination fine signifie que l'on est en présence du sérotype correspondant au sérum monovalent qui a servi à l'agglutination.

7. Antibiogramme

• Principe

Au laboratoire et après l'isolement et l'identification de microorganisme à étudier, on peut tester sa sensibilité à divers antibiotiques. Nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme selon la recommandation du **CLSI**.

• Technique

✓ Préparation des milieux

- Nous avons préparé et autoclavé la gélose MH en fonction des recommandations du fabricant

- Nous avons ramené la température à 42-45 °C

-Pour préparer la gélose MH-F, nous avons ajouté stérilement 50 mL de sang de cheval défibriné et 1 mL de la solution mère de β -NAD par litre de milieu. Bien agité et réparti immédiatement

- Nous avons réparti le milieu en boîtes de Pétri stériles de façon à obtenir une épaisseur de $4\text{m}\pm 0.5\text{ mm}$ (soit environ 25 mL par boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, 31 mL par boîte de Pétri de 100 mm de diamètre, 71 mL par boîte de Pétri de 150 mm de diamètre, 40 mL par boîte de Pétri carrée de 120 mm)
- Nous avons laissé la gélose prendre avant de déplacer les boîtes
- La surface de la boîte doit être sèche avant utilisation. Le séchage des boîtes dépend des conditions de stockage et des moyens de séchage. Ne pas dessécher la gélose
- La surface de la gélose doit être séchée avant emploi. Les conditions de séchage et de conservation des milieux fabriqués au laboratoire sont fonction de l'équipement du laboratoire et doivent être déterminées localement. Les boîtes ne doivent pas être desséchées
- Nous avons conservé les boîtes préparées au laboratoire à 8-10 °C. Si elles sont conservées au-delà de 7 jours, les conserver à 4-8 °C en sachet plastique scellé.

✓ Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture visible, nous avons réalisé une suspension bactérienne en solution salée (eau physiologique stérile) pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland
- Pour ce faire, nous avons prélevé plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Nous avons mettre ces colonies en suspension en milieu salé avec un ose stérile ou un écouvillon en coton
- Nous avons peuvent également comparer à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland. Dans ce cas nous avons agité vigoureusement l'étalon de turbidité sur un Vortex avant usage. Pour faciliter la comparaison des deux échantillons, nous avons placé face à un fond blanc avec des lignes noires.

✓ Inoculation des géloses

L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min. qui suivent sa préparation.

- Nous avons plongé un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminé l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries à Gram négatif

- Nous avons écouvillonné sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions ou en utilisant un ensemenceur rotatif

- Nous avons déposé les disques. Si les boîtes sont abandonnées à la température du laboratoire trop longtemps avant le dépôt des disques, la bactérie peut commencer à croître conduisant à une fausse diminution de la taille des zones d'inhibition.

✓ Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique

- Nous avons déposé les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide

- Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques. Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables. Le nombre maximum de disques est fonction de la bactérie et des antibiotiques car certains entraînent pour des souches sensibles, des zones très larges. Un maximum de six disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre, douze (ou seize) pour celles de 150 mm de diamètre et seize pour les boîtes carrées de 120 mm de côté. Les disques d'érythromycine et de clindamycine doivent être placés à une distance de 12-20 mm bords à bord afin de détecter la résistance inductible aux lincosamides, chez les staphylocoques et les streptocoques.

✓ Incubation des boîtes de Pétri

- 37 °C en aérobiose 16 à 24 h

- Les incubes idéalement dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies.

✓ **Lecture des boîtes après incubation**

- Un inoculum et un ensemencement corrects doivent conduire à une culture confluyente

- La culture doit être répartie sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires

- La présence de colonies isolées indique que l'inoculum est trop faible. Refaire le test

- Vérifier que les diamètres des zones d'inhibition sont dans les limites du contrôle de qualité.

✓ **Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique**

- La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l'œil

- Ne pas tenir les boîtes face à une lampe (lumière transmise) ni employer une loupe grossissante (sauf cas particulier, voir infra)

- Nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle, un pied à coulisse ou un système de lecture automatisé

- Nous avons interprété les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques [82].

Résultats et discussion

Etude prospective

1. Identification bactériologique

1.1 Caractères morphologiques

D'après les tests utilisés, les 167 isolats bactériens possèdent les mêmes caractères morphologiques.

- L'examen à l'état frais montre que les souches bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles mobiles.
- Après la coloration de Gram les souches purifiées sont apparues sous forme des bacilles roses. Elles possèdent des parois des Gram négatif (**Figure 11**).

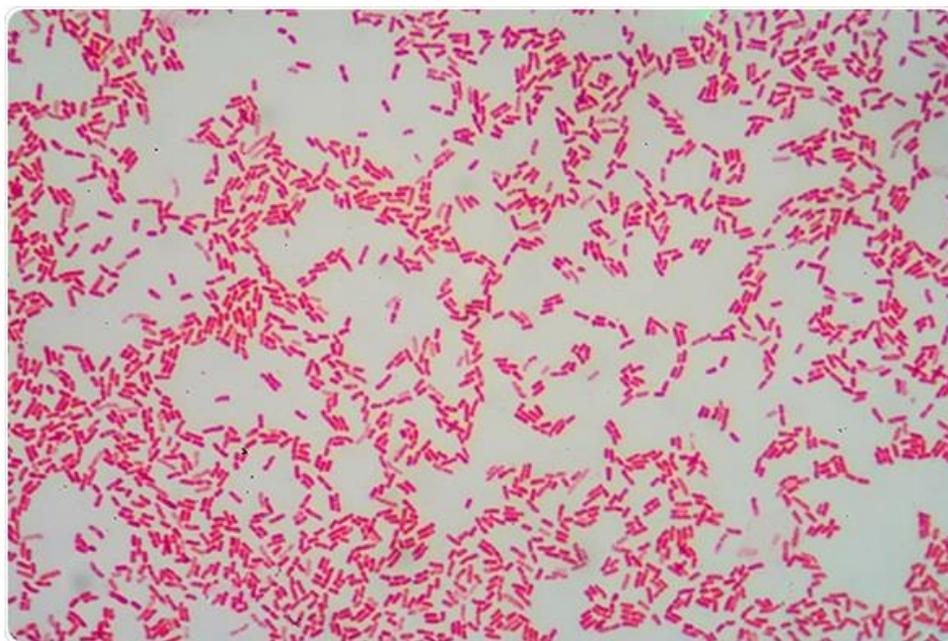


Figure 11 : L'observation microscopique d'un frottis de *Pseudomonas aeruginosa* après coloration de Gram d'un (objectif 100X) [20].

1.2 Caractères cultureux

Les résultats d'isolement et de repiquages des 167 souches étudiées (après incubation à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C), montrent l'apparition des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Hektoen présentant les caractères morphologiques suivants (**Figure 12**) :

- Des colonies grandes de couleur verte foncé sont appelées des colonies **larges (la)**.
- Des colonies petites de couleur vert foncé rondes sont appelées des colonies **Small (sm)**.

Ces colonies sont caractérisées par une odeur florale.



Figure 12 : Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu (Hektoen).

1.3 Caractères biochimiques

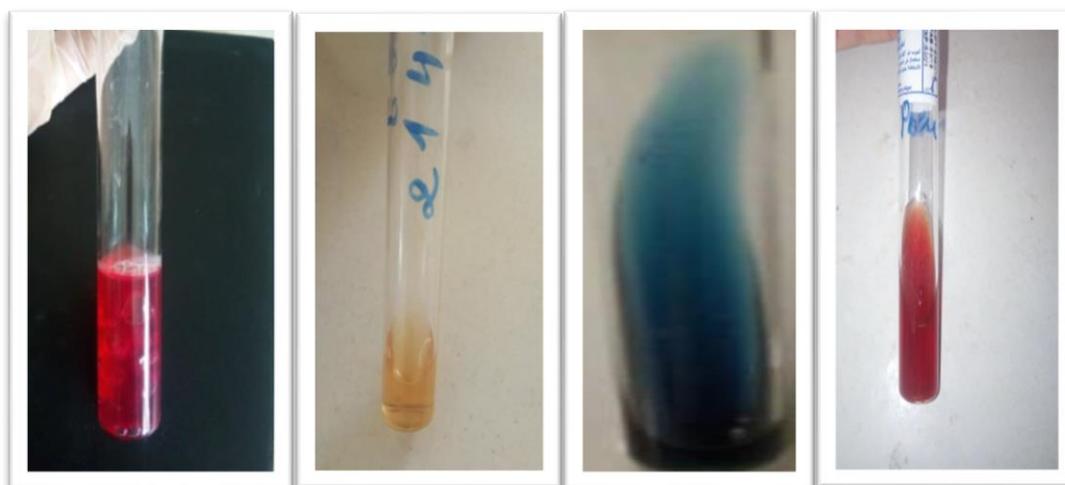
La mini galerie biochimique nous a permis d'identifier les souches de *P. aeruginosa* de façon acceptable.

Tableau 2 : mini galerie biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.

Milieu	urée-indole		Mannitol-mobilité		Citrate de Simmons	Milieu(TSI)
	urée	indole	mannitol	Mobilité		
Résultats	-	-	-	+	+	-

+ : Test positif.

- : Test négatif.



A

B

C

D

Figure13 (A) : Résultat négatif sur milieu rouge mannitol.

Figure 14 (B) : Résultats négatif sur milieu urée-indole.

Figure 15 (C) : Résultats positif sur milieu citrate.

Figure 16 (D) : Résultats négatif sur gélose TSI.

- **Test de la catalase**

Apparition de bulles, dégagement gazeux d'oxygène, catalase **positif**.



Figure 17 : Résultats de test de catalase.

- **Test d'oxydase**

La colonie prend une teinte violette. Le germe possède une oxydase, le test est positif.

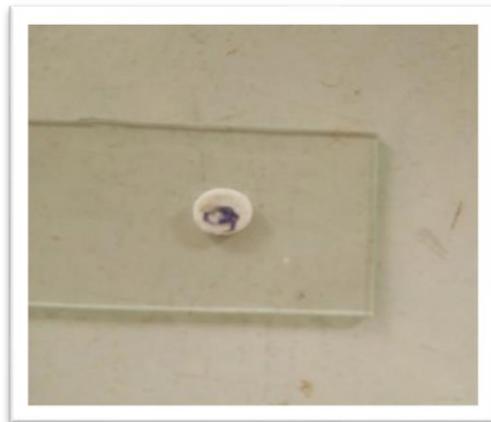


Figure 18 : Résultats de test d'oxydase.

- Les résultats finaux des caractères biochimiques sont présentés dans (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa*.

Respiration	Oxy	Cat	Glu	Lac	Sach	Man	Urée	Indol	Cit	H ₂ S	Gaz	Mobilité
Aérobie stricte	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+

Les tests biochimiques ont montré que toutes les souches isolées sont des bactéries non fermentatives (glucose-, lactose-, saccharose-, H₂S-, gaz-), utilisent le citrate comme seule source de carbone (Citrate+), elles sont uréase négative, indole négatif.

1.4 L'antibiogramme

Après incubation, les disques sont entourés de zones d'inhibition circulaire. Les diamètres des zones d'inhibition reflètent la sensibilité du germe (**Figure 19**). La lecture de l'antibiogramme permet de déduire, à partir de la mesure de ces diamètres, les catégories sensibles, résistantes ou intermédiaires. Les résultats de l'antibiogramme réalisés sont résumés dans (**Tableau 4**).



Figure 19 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés.

Tableau 4 : Pourcentage de résistance des antibiotiques.

Antibiotique	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes(R+I)	Pourcentage %
Ticarcilline	166	74	44,57 %
Pipéracilline	167	57	34,13 %
Imipenème	167	21	12,57 %
Ceftazidime	167	31	18,56 %
Aztréonam	167	21	12,57 %
Gentamicine	166	38	22,89 %
Amikacine	166	20	12,04 %
Ciprofloxacine	167	44	26,34 %
Colistine	167	00	00,00 %

Nos isolats se sont révélés résistants à de nombreux antibiotiques : 44,57 % à la Ticarcilline, 34,13 % à la Pipéracilline, 12,57 % à l’Aztréonam, 18,56 % à la Ceftazidime et 12,57 % à l’Imipenème.

Pour les Aminosides, les taux de résistance sont de 22,89 % pour la Gentamicine, 12,04 % pour l’Amikacine. Concernant les Fluoroquinolones les taux de résistance étaient de 26,34 % à la Ciprofloxacine (**Tableau 4**).

Il faut noter que toutes les souches isolées sont sensibles à la colistine.

Dans cette étude, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré une résistance élevée à la plupart des antibiotiques testés.

Etude globale (rétrospective et prospective)

1. Répartition de *Pseudomonas aeruginosa*

L'étude globale s'est déroulée du 1er janvier 2017 au 1 juin 2019. Il s'agit d'une étude rétrospective (du 1er janvier 2017 au 1 mars 2019) et l'autre prospective durant les trois mois de l'année 2019 (du 1 mars 2019 au 1 juin 2019).

Durant notre étude 712 d'isolats des *P. aeruginosa* ont été isolées au niveau des palliasses de laboratoire de CHU de Constantine pendant notre étude rétrospective.

1.1 Répartition des isolats de *P. aeruginosa* selon le sexe des patients

Tableau 5 : Répartition selon le sexe des patients.

Sexe	Nombre	Pourcentage
Homme	390	54,77%
Femme	322	45,22%
Total	712	100%

Une légère prédominance masculine est notée, 54,77% pour 45,22% (**Tableau 5**).

La sex-ratio H/F est de 1, 21.

Nos résultats sont similaires à ceux d'une thèse marocaine présentée par **Nyaledome Ablavi I** en 2016 [3].

Mais, nous ne pourrions pas conclure sur l'existence d'un lien étroit entre les infections à *P. aeruginosa* et le sexe car contrairement à ces résultats, d'autres études, ont trouvé que les deux sexes s'équivalent [83] ou parfois il y a une prédominance féminine [84].

1.2 Répartition des isolats de *P. aeruginosa* selon l'activité du service

Tableau 6 : Répartition selon l'activité du service (n=712souches).

services	Nombre	Pourcentage
Réanimation	200	28,08 %
Chirurgie	193	27,10 %
Médecine	178	25,00 %
Pédiatrie	36	05,05 %
Néonatalogie	4	00,56 %
Autre service	10	01,40 %
+Externe	91	12,78 %
Total	712	100 %

Les services de réanimation en premier, suivis de ceux de chirurgie et de médecine, fournissaient à eux seuls plus des 3/4 des souches (soit 80,18 %).

Ces taux d'isolements sont similaires à ceux retrouvés dans l'étude marocaine faite en 2016 au niveau de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V par **Nyaledome Ablavi I.** et de l'étude tunisienne réalisé au CHU de Monastir entre 2002-2005 par **Ben Abdellah H, et al**, qui rapportent que les taux d'isolement dans les services de réanimation sont 35,1 % et 33,5 % respectivement et dans les services de chirurgie sont 10,6 % et 24,3 % respectivement [3,88].

1.3 Répartition des souches de *P. aeruginosa* selon le type de prélèvement

Tableau 7 : Répartition selon le type de prélèvement.

Type de prélèvement	Nombre	Pourcentage
Pus	272	38,20 %
Urines	224	31,46 %
Sang	93	13,06 %
Prélèvement abdominale	11	01,54 %
cathéter	13	01,82 %
Prélèvement vaginale	4	00,56 %
LCR	3	00,42 %
Plaie	34	04,77 %
Drain	3	00,42 %
Prélèvement trachéale	43	06,03 %
Autres Prélèvement	12	01,68 %
Total	712	100 %

Ces bactéries ont été essentiellement isolées des pus (38,20 %) suivis des urines (31,46 %) et du sang (13,06 %). Ces trois sites ont fourni à l'origine de 82,72 % des souches de *P.aeruginosa* isolé de notre étude.

Nos résultats sont en concordance avec ceux d'étude de **Chokri K.** réalisée à l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat en 2008, et celle d'un centre hospitalier universitaire à Monastir en 2008, qui rapportent que *P. aeruginosa* est isolé essentiellement, à partir des pus, des urines, et des

hémocultures [85,86]. Mais ils sont différents de ceux retrouvés dans une étude réalisée à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V qui apporte que (27,1 %) des souches de *P.aeruginosa* sont isolées à partir des pus, (24,5 %) des prélèvements Broncho-pulmonaires et (17,9 %) des urines [3] et ceux d'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 %) [1].

2. Résistance aux Antibiotiques

Tableau 8 : Taux de résistance aux antibiotiques (n=712).

Antibiotiques	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Ticarcilline	712	297	41,71 %
Pipéracilline	712	244	34,26 %
Imipenème	712	125	17,55 %
Ceftazidime	712	162	22,75 %
Aztréonam	712	122	17,13 %
Gentamicine	712	177	24,85 %
Amikacine	712	124	17,41 %
Ciprofloxacine	712	320	44,94 %
Colistine	712	0	00,00 %

Parmi nos isolats présentait une résistance à tous les antibiotiques testés sauf à la colistine.

Les taux de résistance aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* isolée sur trois ans étaient les suivants :

Pour les Bêta-lactamines, les taux de résistance sont de 34,26 % à la Pipéracilline, 22,75 % à la Ceftazidime et 17,13 % à l'Aztréonam et 17,55 % à l'Imipenème.

Concernant les aminosides les taux de résistance à l'Amikacine et à la Gentamicine ont été de 17,41% et 24,85% respectivement.

Le taux de résistance à la ciprofloxacine est de 44,94 % (**Tableau 8**).

Concernant la Ticarcilline, nos souches sont moins résistantes par rapport à celles isolées dans étude algérienne réalisée par **Memdouh S, et al.**, au CHU de Constantine (69,57 %) [81], mais plus résistantes par rapport à celles isolées dans étude marocaine (32,6 %) [3].

Nos souches sont moins résistance à la Piperacilline (34,26 %) comparativement à celles isolées dans l'étude algérienne réalisée au CHU de Constantine (67,09 %) [81] et celles d'une étude marocaine (37,7 %) [3] et celles isolées entre (2001-2006) par **Starteva T, et al.**, dans un l'hôpital universitaire à Sofia en Bulgarie (86,2 %) [87].

Pour l'Imipenème, nos souches sont moins résistantes par rapport à celles isolées dans l'étude algériennes (26,27 %) et marocaine (26,02 %) [34,89] mais plus résistantes (14,6 %) que celles de l'étude réalisée en Espagne, [88].

Les taux de résistance à l'Aztréonam de notre série sont inférieurs à ceux de l'étude algérienne et marocaine ; 55,92 % et 65,20 % respectivement [3,81]. Concernant la Ciprofloxacine, Les taux de notre série sont plus élevés par rapport à ceux des études menées en Algérie (25,25 %) [81] et au Maroc (21,10 %) [3].

2.1 Taux de résistance selon le service

Il faut noter que les taux de résistance sont différents selon le service. Ils sont plus élevés aux services de réanimation. Nous rapportons les résultats dans les services où la bactérie est la plus isolée.

2.1.1 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de réanimation

Tableau 9 : Taux de résistance aux services de réanimation.

Antibiotiques	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Ticarcilline	297	124	41,75 %
Pipéracilline	244	115	47,13 %
Imipenème	125	79	63,20 %
Ceftazidime	162	86	53,08 %
Aztréonam	123	5	41,46 %
Gentamicine	177	96	54,23 %
Amikacine	122	79	64,77 %
Ciprofloxacine	320	105	32,81 %
Colistine	0	0	00,00 %

Les services de réanimation constituent particulièrement les lieux où l'on a noté les taux de résistance aux antibiotiques les plus élevés.

Nos souches restent plus sensibles que celles isolées dans un hôpital universitaire à Sofia en Bulgarie par **Starteva T, et al.**, où on note que 86,2 % des souches sont résistantes à la Pipéracilline, 49,8 % à l'Aztreonam et 45,8 % à la Ceftazidime [87] et moins sensible que celles isolées dans CHU de Constantine en l'Algérie (2017-2018) où on note que 26,78 % des souches sont résistantes à la Pipéracilline, 30,35 % à l'Aztreonam et 28,57 % à la Ceftazidime [81].

Pour les aminosides, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés dans plusieurs études : 79,7 % à la Gentamycine et 59,1 % à l'Amikacine dans l'étude menée en Bulgarie [87] ,86 % à la

Gentamycine et 73 % à l'Amikacine dans l'étude iranienne réalisée par **Saderi H, et al.**, [89]. Par contre le taux de résistance à Amikacine est supérieur à celui rapportes dans l'étude algérienne (1,78 %) [81].

Pour les Fluoroquinolones, nos résultats sont moins élevés que ceux de l'étude algérienne (32,14 %) [81], Bulgare (80,3 %) [87] et l'étude iranienne (55 %) [89].

2.1.2 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de chirurgie

Tableau 10 : Taux de résistance aux services de chirurgie.

Antibiotiques	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Ticarcilline	297	63	21,21 %
Pipéracilline	244	42	17,21 %
Imipenème	125	14	11,20 %
Ceftazidime	162	32	19,75 %
Aztréonam	123	32	26,01 %
Gentamicine	177	28	15,81 %
Amikacine	122	18	14,75 %
Ciprofloxacine	320	87	27,18 %
Colistine	0.00	00	00,00 %

Nos résultats sont différents de ceux d'une étude algérienne réalisée au CHU de Constantine par **Memdough S, et al.**, [81] qui rapportent les taux de résistance suivants : Ticarcilline (65,60 %), Pipéracilline (60,65 %), Céfotaxime (4,42 %), Imipenème (7,71 %), Gentamicine (46,46 %) et Ciprofloxacine (23,23 %).

2.1.3 Taux de résistance aux antibiotiques dans les services de médecine

Tableau 11 : Taux de résistance aux services de médecine.

Antibiotiques	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Ticarcilline	297	60	20,20 %
Pipéracilline	244	48	19,67 %
Imipenème	125	18	14,40 %
Ceftazidime	162	26	16,04 %
Aztréonam	123	25	20,32 %
Gentamicine	177	29	16,38 %
Amikacine	122	14	11,47 %
Ciprofloxacine	320	72	22,50 %
Colistine	0	0	00,00 %

Les taux de résistance aux antibiotiques les plus élevées au niveau des services de médecine sont : 22,50 % à la Ciprofloxacine, 20,32 % à l'Aztréonam et le taux le plus bas est 11,47 % à l'Amikacine (**Tableau 11**).

2.1.4 Taux de résistance à l'antibiotique chez les patients en consultation externe

Tableau 12 : Taux de résistance chez les patients en consultation externe.

Antibiotiques	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Ticarcilline	297	34	11,44 %
Pipéracilline	244	27	11,06 %
Imipenème	125	08	06,40 %
Ceftazidime	162	13	08,02 %
Aztréonam	123	13	10,56 %
Gentamicine	177	18	10,16 %
Amikacine	122	08	06,55 %
Ciprofloxacine	320	38	11,87 %
Colistine	0	0	00,00 %

Chez les patients en consultation externes, la résistance aux antibiotiques est un peu moins élevée par rapport à celle observée au niveau des services pour tous les antibiotiques testés (**Tableau 12**).

2.2 Phénotypes de résistance aux Bêtalactamines des isolats de *P. aeruginosa*

Tableau 13 : Phénotypes de résistance aux Bêtalactamines des isolats de *P. aeruginosa*.

Phénotypes	Nbre de souches testées	Nbre de souches résistantes	Pourcentage
Sauvage	712	476	66,85 %
Pénicillinase	712	76	10,67 %
Carbapénémases+CHN et/ ou BISE	712	68	9,55 %
CHN et / ou BLSE	712	49	6,88 %
Carbapénémase	712	43	6,03 %

Le phénotype sauvage est majoritaire, il représente 66,85 % de notre étude. Les souches de phénotype CHN et/ou BLSE sont de l'ordre de 6,88 % et celles de phénotype carbapénémases représente 6,03 %. Ces derniers sont des métallobetapénémases isolées dans les services de réanimation (**Tableau 13**).

Nos isolats producteurs de pénicillinases étaient de 10,67 % alors qu'ils étaient de 26,5 % dans l'étude d'**Hortense Gonsu Kamga, et al.**, [90].

Nos souches de phénotype céphalosporine de haut niveau (CHN) associée ou non à une Bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) représentaient 6,8 % des phénotypes de résistance observés. Dans l'étude menée par **Shrivastava, et al.**, les BLSE viennent en tête des phénotypes de résistance avec une prévalence de 49,49 % [91]. En Turquie, elles sont de l'ordre de 11 % et atteignent jusqu'à 50 % en Thaïlande [92, 93].

La résistance aux carbapénèmes par production de carbapénémases représente 6,03 % dans notre série alors que dans l'étude de **Shrivastava, et al.**, cette résistance est de 20,20 % [90].

Conclusion

Pseudomonas aeruginosa est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes non fermentant et versatile responsable des infections nosocomiales.

Les tests biochimiques ont montré que toutes les souches isolées sont des bactéries non fermentatives (glucose-, lactose-, saccharose-, H₂S-, gaz-), utilisent le citrate comme seule source de carbone (Citrate+), elles sont d'uréase négative, indole négatif.

Nous avons noté au cours de notre travail que la bactérie est isolée essentiellement dans les Services de réanimation (28,08 %), suivi par la chirurgie (27,10 %) et la médecine (25 %). Chez les patients traités en externe, le taux est de 12,78 %. De plus, elle est retrouvée surtout dans les pus (38,20 %) suivis par les urines (31,46 %) et le sang (13,06 %).

Notre étude sur l'antibiorésistance des bacilles à Gram négatif non fermentant au niveau des services du CHU de Constantine a permis d'apprécier l'efficacité des antibiotiques utilisés.

La résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* s'est révélée plus importante. 41,71 % à la Ticarcilline, 34,26 % à la Piperacilline, 17,13 % à l'Aztréonam, 22,75 % à la Ceftazidime et 17,55 % sont résistants à l'Imipénème, 24,85 % pour la Gentamicine, 17,41 % pour l'Amikacine, 44,94 % des souches sont résistantes aux Ciprofloxacine. Toutes les souches isolées sont sensibles à la Colistine.

La prévention des résistances ne réside pas uniquement dans la recherche des molécules actives sur cette bactérie, mais dans la prévention contre la diffusion de ce pathogène résistant, Cette lutte est basée essentiellement sur l'application des mesures d'hygiène rigoureuses, utiliser du matériel médical stérile ou à usage unique, détection des patients porteurs de germes multi-résistants et le bon usage des antibiotiques.

*Références
bibliographique*

- [1] Hamze M, Dabboussi F, Izard. D. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : Thèse de doctorat : étude sur quatre ans (1998-2001) au nord du Liban. Médecine et maladies infectieuses.2004 ; 34 :321-324.
- [2] Larry M. les Manuels MSD [en ligne] (page consultée le 15 mai 2019) <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%C3%A9riennes-bact%C3%A9ries-gram-n%C3%A9gatives/infections-%C3%A0-pseudomonas>.
- [3] Nyaledome Ablavi I. *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. Thèse de doctorat : Université Mohammed- V–RABAT– .2016.
- [4] YETERIANE. Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat : Université Strasbourg.2010.
- [5]Chaker H. Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat : Université de Grenoble.2012.
- [6] Boudouda R. Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de master : Génétique Moléculaire : Université des Frères Mentouri Constantine.2015.
- [7] Willcox M. *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lenswear : à review [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17435510>.
- [8] Kayser F, Bienz H, et al. *Medical Microbiology*. Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag. 2001.
- [9] Enoch D, Simpson A et Kibbler, C. C. Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology*.2004; 53:1151-1154.
- [10] Palumbo S A. Role of iron and sulfur in pigment and slime formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriolog*.1972; 111:430-436.
- [11] Science Source (2016). Find art America [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019) <https://fineartamerica.com/featured/1-mdr-pathogen-pseudomonas-aeruginosa-science-source.html>. 2016.

- [12] Barir O, Ghilani M. Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière. Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire Université Mohamed khider-Biskra.2011.
- [13] Souley L, Moustafa F. Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du point G. Thèse présenté pour obtenir le grade de docteur en pharmacie : Université de BAMAKO. 2002.
- [14] Flandrois J.P. Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon.1997.
- [15] Denis F, Poly M.C et al. Bactériologie médicale, technique usuelles. Masson, Cedex.2007.
- [16] Palleroni N. Manual of Systematic Bacteriology.USA.1984.
- [17] Clave D. Fiche technique bactériologie *Pseudomonas aeruginosa* centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique. 2011.
- [18] Pagés J, Garnotel E. Revue Française des Laboratoires.2003 ; 352 : 57-63.
- [19] Anis Ben HajKhalifa. Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* : mechanisms and modes of regulation [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019) <https://www.researchgate.net/publication/51623728>.
- [20] Structure of cellwall of Gram-negative bacteria, labeled, 3D illustration [en ligne] (page consultée le 20 mai 2019) https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwjBk9bG7p3jAhVLDWMBHbywB0AQjRx6BAgBEAU&url=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.com%2Fpin%2F498632989984708863%2F&psig=AOvVaw0rcZW-seFVJGL80iElvcQ_&ust=1562419007899344
- [21] Cady A. Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie : Université de Nantes faculté de pharmacie.2006.
- [22] Stover C, Pham X. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature .2000 ; 406:959-64

- [23] Cabrolier N, Bertrand X. Épidémiologie et facteurs de risques des infections liées à *Pseudomonas aeruginosa*. Journal des Anti-infectieux. 2014 : 8-12.
- [24] Danielle C. Fiche technique : *Pseudomonas aeruginosa*. 2011.
- [25] Sophie de Bentzmann, P.P. *Pseudomonas aeruginosa* : une virulence complexe. Revue Francophone des Laboratoires.2011 ; 435 : 73-81.
- [26] Lynn W, Golenbock D. Lipopolysaccharide antagonists. Immunol Today. 1992: 271-6.
- [27] Veron M. Biologie de *Pseudomonas aeruginosa*. Médecine et maladies infectieuses. 1983 ; 13: 352-356.
- [28] Structure et croissance bactérienne Relations hôtes - bactéries – ppt [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019)
<http://slideplayer.fr/slide/3194550/>.
- [29] Petit traité d'art militaire... de *Shigella* – M/S : médecine sciences – Érudit [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019)
https://www.erudit.org/en/journals/ms/2005-v21-n4_ms878/010780ar/.
- [30] Parsek M, Greenberg E. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proc Natl Acad Sci*.
- [31] Smith R, Iglewski B. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol*. 2003 ; 6 : 56-60. USA 2000 ; 97:87-93.
- [32] Carpentier J, Morillon M et al. Infections à bacille pyocyanique. EMC 8-025-B-50. 2003:23.
- [33] Wagner V, Frelinger J et al. Quorum sensing dynamic response of *Pseudomonas aeruginosa* to external signals. *Trends Microbiol*. 2006 ; 14:55-8.
- [34] Ben Haj Khalifa A, Kherdher M et al. Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations. *Annales de Biologie Clinique*.2011 ; 69: 393-403.
- [35] Mattmann M, Geske G et al. Synthetic ligands that activate and inhibit a quorum-sensing regulator in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008:18.

- [36] Ruimy R, Andremont A. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Réanimation*.2004; 13:176-84.
- [37] Van Delden C, Iglewski B. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg Infect Dis*. 1998; 4:60-551.
- [38] Calfee M, Coleman J, Pesci E. Interference with *Pseudomonas* quinolone signal synthesis inhibits virulence factor expression by *Pseudomonas aeruginosa*. *ProcNatlAcadSci USA*.2001; 98:7-11633.
- [39] Latifi A, Foglino M et al. A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS. *MolMicrobiol*.1990; 21: 46-1137.
- [40] Rolsma S, Frank D, Barbieri J. 5 - *Pseudomonas aeruginosa* toxins, in *The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins (Fourth Edition)*, J.A.L.R. Popoff, Editor. 2015, Academic Press: Boston. 2015:133-160.
- [41] Wu, W et al. Chapter 41 - *Pseudomonas aeruginosa*, in *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*, Y.-W.T.S.L.P. Schwartzman, Editor. 2015, Academic Press : Boston. 2015:753-767.
- [42] Eyquem A, Alouf J, Montagnier L. *Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments* .2000 :Piccin.
- [43] Lau G, Hassett D, et al. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends Mol Med* .2004; 10: 599-606.
- [44] Lau G, Ran H et al. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infect Immun*. 2004; 72:4275-8.
- [45] Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Med Mal Infect* .2006; 36:78-91.
- [46] Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* .1994; 264:382-8.
- [47] O'Malley Y, Reszka K.J et al. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanine directly oxidizes glutathione.

- [48] Lamont L, Beare P.A et al. Siderophore mediated signal ingregulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. ProcNatlAcadSci USA .2002; 99:7072-7.
- [49] Takase H, Nitanaï H et al. Impact of siderophore production on *Pseudomonas aeruginosa* infections in immunosuppressed mice. Infect Immun .2000; 68: 1834-9.
- [50] Djerboua T. slideShare [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019) <https://www.slideshare.net/TaoufikDjerboua/pseudomonas-aeruginosa-et-acinetobacter-baumannii>.
- [51] Lozniewski A, Rabaud C, Nancy .Resistance bacterienne aux antibiotiques [en ligne] (page consultée le 5 mai 2019) <https://fr.scribd.com/document/299347069/2010-ResistanceAntibiotiques-CClinSE-pdf?fbclid=IwAR04LQ4TeyDAAPYAU7AhfpUssHyzbuc8YKvgrdq8BLKsPt83WU25upHN1WY>.
- [52] Mérens A, Cavallo J.D. Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. EMC-Maladies infectieuses .2013; 10: 1-18.
- [53] BrichaS, OulkheirS. Facteurs de virulence et épidémiologie lies au *Pseudomonas aeruginosa*. Revue Tunisienne d'Infectiologie .2009 ; 2 : 7-14.
- [54] Mérens A, Plésiat P *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. Revue Francophone des Laboratoires .2011; 435:49-62.
- [55] Elena B, *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance .2011; 8: 419-426.
- [56] Lepape A. Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation .2003; 22 :520-522.
- [57] Nauciel C, Vildé J-L. Bactériologie médicale. Rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux Cedex.2007 : 140- 141.
- [58] Centre hospitalier de Beauvais. Prélèvement ORL [en ligne] (page consultée le 7 mai 2019) <http://www.ch-beauvais.fr/guideanalyse/orl.html>.

- [59] coproweb. Examen bactériologique d'un prélèvement oculaire [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<http://coproweb.free.fr/gbearemi/oeil.htm>.
- [60] PBP [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
http://ch-troyes.fr/biologie-medicale/Documentation%20Site%20Infirmier/MIC-FI-RB01_Guide_Microbio/MIC-FI-RB01-B12_Broncho-Pulmonaire.htm#Haut.
- [61] Biolam. Recueil des urines pour ECBU (recherche d'une infection urinaire) [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<http://www.biolam.fr/patients/preparez-votre-venue-au-laboratoire/prelevements-urinaires/>.
- [62] Centre Hospitalier de Troyes. Prélèvements Cutanés sur peau lésée[en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
http://ch-troyes.fr/biologie-medicale/Documentation%20Site%20Infirmier/MIC-FI-RB01_Guide_Microbio/MIC-FI-RB01-B19_Prel-Cutanes-lese.htm.
- [63] NOSO INFO. Les prélèvements d'hémoculture [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<http://www.nosoinfo.be/nosoinfos/les-prelevements-dhemoculture/>
- [64]Memobio. *Pseudomonas aeruginosa*[en ligne] (page consultée le 17 avril 2019)
http://www.memobio.fr/html/bact/ba_ba_pae.html.
- [65] 55857_2012_04_FR.Milieu d'isolement sélectif de *Pseudomonas aeruginosa*[en ligne] (page consultée le 17 avril 2019)
https://docs.google.com/document/d/1UEXqH8fevOWjbKEow9EdA_yy2O4hBbHZUcWBka_hIVgE/edit?usp=drive_web&ouid=110970333518051134597&usp=embed_facebook.
- [66] RiegelP, Brield, Dauwalder O. Automatisation de l'identification bactérienne. RevFrancoph Lab. 1 mai 2016 ; 2016 ; 482 :39- 47.
- [67] AquaPortail. Définition de oxydase [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<https://www.aquaportail.com/definition-2847-oxydase.html>.
- [68] Horde P. Journal des Femmes Santé (Catalase - Définition) [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/51634-catalase-definition>.

[69] *Pseudomonadaceae-Pseudomonas* [en ligne] (page consultée le 17 avril 2019)
https://docs.google.com/document/d/19n-auT9-INao4xuqVJiSeLjq7CGDFAUFdOeQr6rxABs/edit?usp=drive_web&oid=110970333518051134597&usp=embed_facebook.

[70] Identification bactérienne [en ligne] (page consultée le 8 mai 2019)
<http://droguet-sebastien.e-monsite.com/pages/activites-technologiques-1ere-2015-2016/at20-identification-bacterienne.html>.

[71] passeport sante. Comment lire le résultat d'un antibiogramme ? [en ligne] (page consultée le 17 avril 2019)
https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=interpreter_analyse_urine-les-resultats-de-l-antibiogramme.

[72] EM Consulte. *Pseudomonas aëru ginosa* : antibiogramme aux bêtalactamines [en ligne] (page consultée le 17 avril 2019)
<https://www.em-consulte.com/article/61004/pseudomonas-aeruginosa%C2%A0-antibiogramme-aux-beta-lac>.

[73] ct032277pdf. [en ligne] (page consultée le 31 mai 2019)
<https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct032277.pdf>.

[74] AGEPCom. Lutte et traitement contre les infections nosocomiales : Hygiène à l'Hôpital Paris Saint Joseph [en ligne] (page consultée le 9 mai 2019)
<https://www.hpsj.fr/qui-sommes-nous/lutte-contre-les-infections-nosocomiales/>.

[75] Figaro Santé. Infection nosocomiale - Quelle prévention ? [en ligne] (page consultée le 9 mai 2019)
<http://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/infection-nosocomiale/quelle-prevention>.

[76] L'examen à l'état frais [en ligne] (page consultée le 9 mai 2019)
<http://www.microbiologie-medicale.fr/examenmicroscopique/etatfrais.htm>.

[77] Les différents types de bactéries [en ligne] (page consultée le 9 mai 2019)
<https://antibio.site44.com/les-types-de-bacteacuteries.html>.

[78] Isolement de colonies de microorganismes sur milieu gélosé [en ligne] (page consultée le 9 mai 2019)

http://www.didierpol.net/3isol.htm?fbclid=IwAR0Wu2vAHR_E1uh9w5ck67YAX3Zp1L5V32PBlyfkTCncbo_uqyQzpM_gfHs.

[79] Ensemencement de bactéries sur milieu solide et milieu liquide Avec le coffret "Institut Pasteur" [en ligne] (page consultée le 12 mai 2019)

https://www.bio-top.net/Microbio/TP/Pasteur_obs.htm.

[80] Microbiologie-médicale. Milieu urée-indole (UI) [en ligne] (page consultée le 27 avril 2019)

<http://www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/ureeindole.htm>.

[81] MEMDOUH S, REDDAF S. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire de master : Microbiologie et Hygiène Hospitalière : Université des Frères Mentouri Constantine. 2017-2018.

[82] CASFM2019_V1.0.pdf. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [en ligne] (page consultée le 30 avril 2019)

https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM2019_V1.0.pdf.

[83] Al, L.e. Diversity of b-lactam resistance mechanisms in cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: a French multicenter study. Journal of Antimicrobial Chemotherapies .2013; 68: 1763-1771.

[84] Al, C.d.A.e. An outbreak of extremely drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care pediatric hospital in Italy. BMC InfectiousDiseases.2014; 14:494.

[85] Ben Abdellah H, Noomen S, Ben Elhadj Khélifa A, Sahnoun O, Elargoubi A, Mastouri M. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir Médecine et maladie infectieuses. 2008.

[86] Chokri K. La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* dans l'hôpital cheikh zaid à rabat entre 2006-2008. Thèse du doctorat en pharmacie.2009.

[87] Starteva T, Ouzouna-Raykova V, Morkova B, Todorova A, Mateva-Proevska Y, Mitov I. Problematic Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the university hospitals in Sofia ; Bulgaria : Current Status of antimicrobial résistance and prevailing resistance mechanisms. Journal of medical Microbiology.2007; 56: 956- 96.

- [88] Sevillanoa E, Valderreya C, Canduelaa M-J, Umarana A, Calvob F, Gallegoa L. Resistance to antibiotics in clinical isolates, *Pathologie Biologie*. 2006; 54: 493-497.
- [89]Saderi H *et al.* Detection of Metallo- β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Tehran, Iran, *LABMEDICINE*.2010 ; 3 : 609-61.
- [90] Hortense Gonsu Kanga, M.T., Zacharie Sando, Jean Marie Ndifo Ngamba, Calixte Didier Mbakop, and Dieudonné Adiogo. Caractérisation phénotypique dessouches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la ville de Yaoundé (Cameroun). *African Journal of Pathology and Microbiology* .2015:4.
- [91] Gunjan Shrivastava, G.S.B., K B Patel. Evaluation of prevalence and antibiogram of multi drug resistant, extensively drug resistant and pan drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients visiting a tertiary care hospital in central India. *CHRISMED J Health Res* .2014; 1:145-9.
- [92] Nordmann P. Mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*.2003 ; 22:527-530.
- [93] Salou M, D.S, Ekouevi D-K, Nyasenu T, Lack F, Loko K, Tigossou S, prince-David M, Dagnra A Y. aspects phénotypiques de la résistance aux lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au laboratoire de bactériologie médicale du CHU Sylvanusolympio (CHU SO) delome, togo. *j. rech. sci. univ. lomé (togo)* ; 16(1) :157-162.

Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif ubiquitaire, elle survit particulièrement dans les milieux humides et hospitaliers, elle provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles. Au cours de notre étude, 712 souches de *P. aeruginosa* ont été isolées dont 28,08 % proviennent du service de réanimation, elles provenaient plus dans les échantillons des hommes 54,77 %, Ces pathogènes ont été isolés essentiellement à partir des prélèvements de pus 38,20 %, d'urine 31,46 % et de sang 13,06 %. L'antibiogramme a révélé une absence totale de résistances contre la Colistine, l'antibiotique le plus actif (44,94 %) était la Ciprofloxacine et le moins actif était Aztréonam (17,13 %). les phénotypes de résistance ont été détectés notamment la résistance par production de Carbapénémases (6,03 %) et les Bêtalactamines à spectre étendu (6,88 %).

Mots-clés : *Pseudomonas aeruginosa*, Infection, les phénotypes de résistance.

Pseudomonas aeruginosa is a ubiquitous Gram-negative bacterium, it survives particularly in humid and hospitable environments, and it causes acute or chronic infections, sometimes serious and fatal. In our study, 712 strains of *P. aeruginosa* were isolated, of which 28,08 % came from intensive care unit, they came more from men 54,77 %, and these pathogens were isolated mainly from samples of pus 38,20 %, 31,46 % urine and 13,06 % blood. The resistance study revealed that no resistance was recorded for Colistin, Ciprofloxacin was the most active antibiotic (44, 94 %) and the least active was Aztreonam (17,13 %). Resistance phenotypes were detected including Carbapenemase production resistance (6,03 %) and extended spectrum Betalactamines (6,88 %).

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Infection, resistance phenotypes.

Pseudomonas aeruginosa هي بكتيريا سالبة الجرام، وتعيش بشكل خاص في البيئات الرطبة والمستشفيات وتسبب التهابات حادة أو مزمنة، خطيرة في بعض الأحيان ومميتة. في دراستنا تم عزل 712 سلالة، منها 28,08% من وحدة العناية المركزة، جاءت أكثر من عينات الرجال 54,77%. تم عزل هذه مسببات الأمراض بشكل رئيسي من عينات القيح 38,20%، 31,46% عينات البول و13,06% عينات الدم. كشفت دراسة المقاومة أنه لم يتم تسجيل أي مقاومة للكوليسيتين كان سيبروفلوكساسين هو أكثر المضادات الحيوية نشاطاً (44,94%) والأقل نشاطاً كان الأزترونام (17,13%). تم الكشف عن أنماط ظاهرية للمقاومة بما في ذلك مقاومة إنتاج وبيتالاكتامين الطيف الممتد (6,88%) و كربابينيماز (6,03%).

كلمات البحث: *Pseudomonas aeruginosa*، المضادات الحيوية، أنماط ظاهرية للمقاومة.

Annexe

Composition des milieux des cultures

- **Bouillon Nutritif**

Extrait de viande de bœuf	1 g/l
Extrait de levure	2 g/l
Peptone	5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
pH	7,4

- **Milieu Mannitol-mobilité nitraté**

Peptone tryptique de viande	20 g/l
Mannitol	2 g/l
RP1%	4 mL
Nitrate K	1 g/l
Agar	4 g/l
pH	7,6-7,8

- **Milieu Citrate de Simmons**

Sulfate de Magnésium	0,2 g/l
Phosphate monoammoniaqué	1 g/l
Phosphate bipotassique	1 g/l
Citrate de sodium	2 g/l
Na Cl	5 g/l
BBT	0,08 g/l
Agar	15 g/l
pH	6,8

- **Milieu Clark et Lubs**

Peptone tryptique	5 à 7 g/l
Glucose	5 g/l
Phosphate bipotassique	5 g/l
pH	7

- **Milieu (TSI)**

Peptone	15,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Peptone pepsique de viande	5,0 g
Glucose	1,0 g
Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Rouge de phénol	0,024 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Sulfate de fer II	0,2 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Agar	11,0 g /l
pH	7,5

- **Milieu Urée-indole**

Tryptophane	3 g/l
Urée	20 g/l
KH ₂ PO ₄	1 g/l
K ₂ HPO ₄	1 g/l
Na Cl	5 g/l
Alcool à 95	10 mL
Rouge de phénol	2,5 mL

- **Gélose nutritive ordinaire**

Extrait de viande de bœuf	1 g/l
Extrait de levure	2 g/l
Peptone	5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Agar	15 g/l
pH	7,4

- **Gélose de Mueller-Hinton (MH)**

Infusion de viande de bœuf	300 g/l
Hydrolysate de caséine	17,5 g/l
Amidon	1,5 g/l
Agar	17 g/l
pH	7,4

- **Bouillon cœur-cervelle**

Infusion de cervelle de veau	12,5 g/l
Infusion de cœur de bœuf	5 g/l
Protéose-peptone	10 g/l
Glucose	2 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Phosphate disodique	2,5 g/l
pH	7,4

- **Gélose Hektoen**

Protéose peptone	12 g/l
Extrait de levure	3 g/l
Na Cl	5 g/l
Thiosulfate de sodium	5 g/l
Sels biliaires	9 g/l
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5 g/l
Salicine	2 g/l
Lactose	12 g/l
Saccharose	12 g/l
Fuschine acide	0,1 g/l
Bleu de bromothymol	0,06 g/l
Agar	14 g/l
pH	7.4

Les services du CHU de Constantine

Autre service	réanimation	Chirurgie	Médecine	Pédiatrie	Externe	Néonatalogie
*Médecine Légale	*Centre des Brulés *Urgences Médicales *Réanimation Médicale	*Urgences chirurgicales *Chirurgie A *Chirurgie B *Chirurgie Thoracique *Neurochirurgie *Orthopédie A *Orthopédie B *Traumatologie *ORL *Chirurgie Maxillo-Faciale *Ophtalmologie *gynéco-obstétrique	*Pneumo-Phtisiologie *Cardiologie *Rhumatologie *Dermatologie *Médecine Interne *Maladies infectieuses *Hématologie *Neurologie *Gastro-Entérologie *Epidémiologie *Médecine de Travail *Endocrinologie *Hémodialyse *Dialyse Péritonéale *CAC	*Urgences Pédiatrique *Pédiatrie A *Pédiatrie métabolique *Pédiatrie infectieuse *Pédiatrie écologique	externe	Nurserie

Tableau des antibiotiques testés

D'AZZAN

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarcilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarcilline + ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 - 64/2	≤ 16/2	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitres tests complémentaires).
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Céftazidime et Aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Fosfomycine**	---	---	---	---	---	---	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	10 µg	≤ 10	---	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2	

* Tableau extrait du Document M100 - S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Les antibiotiques testés

<u>ENTÉROBACTÉRIES (1+2+3)</u>	
<u>BNF (2+3+7)</u>	
1 (Oxoide)	2 (Biorad)
<ul style="list-style-type: none"> - Amoxicilline - Cefazoline - Cefotaxime - Cefoxitine - Colistine - Augumentin (au milieu) 	<ul style="list-style-type: none"> - Ticarcilline - Piperacilline - gentamycine - Amikacine - Fosfomycine

3 (Biorad)	7 (Biorad)
<ul style="list-style-type: none"> - Bactrim - Ertapénème - Imipénème - Ciprofloxacine Piperacilline+Tazobactam - Aztreonam - Chloramphénicol 	<ul style="list-style-type: none"> - Colistine - Ceftazidine - Cefepime

Fiche d'antibiogramme des Bacilles non fermentaires

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS CONSTANTINE
SERVICE DE MICROBIOLOGIE – PR. K. BENLABET – Poste : 20 – 94

N° : _____

ANTIBIOGRAMME : BACILLES NON FERMENTANTS

Nom.....Prénom.....Age.....

Nature du Prélèvement.....Service :.....

Diagnostic Bactériologique :.....

CARBENICILLINE		KANAMYCINE		
TICARCILLINE		TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE		GENTAMICINE		
TICARCILLINE + ACLAVULANIQUE		AMIKACINE		
PIPERACILLINE + TAZOBACTAM		PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME		CIPROFLOXACINE		
CEFEPIME		SULFAMETHOXAZOLE		
CEFPIROME		TRIMETOPRIME		
CEFSULODINE		SULFAMETHOXAZOLE + TRIMETOPRIME		
AZTREONAM		COLISTINE		
IMIPENEME		CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE				

S : sensible, R : résistant, I : intermédiaire

Constantine le,

Chef d'Unité,

Rapport de microbiologie

Service de Microbiologie		Centre Hospitalo-Universitaire Dr Ibn Badis Constantine		Rapport de Microbiologie	
NOM	[REDACTED]	Échantillon	9554	Statut	Terminé
ID patient	[REDACTED]	Prélèv.	URINE	Date de sta...	11/04/2019
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli	
Méd traitant				Méd presc	
01 Pseudomonas aeruginosa		Statut	Terminé	11/04/2019	
01 P. aeruginosa					
Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine	
Amikacine	>32		R		
Amox/Ac Clav	>16/8				
Ampi/Subactam	>16/8				
Ampicilline	>16				
Aztréonam	8		S		
Céfazoline	>16				
Céfepime	>16		R		
Céfotaxime	>32				
Céfotaxime/Ac. Clavu...	>4				
Céfoxitine	>16				
Cefpodoxime	>4				
Ceftazidime	>16		R		
Ceftazidime/Ac. Clavu...	>2				
Céfuroxime	>16				
Chloramphénicol	>16				
Ciprofloxacine	<=0.5		S		
Colistine	4		I		
Ertapénème	>4				
Fosfomycine	>32				
Gentamicine	>8		R		
Imipénème	>8		R		
Lévofloxacine	<=1		S		
Méropénème	4		I		
Mezlocilline	>64		R		
Nitrofurantoïne	>64				
Norfloxacine	<=4		S		
Pip/Tazo	64		I		
Pipéracilline	64		I		
Tétracycline	>8				
Tobramycine	>8		R		
Triméth/Sulfa	>4/76				

S	= Sensible	N/R	= Pas reporté	Bianc	= Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
I	= Intermédiaire	---	= Pas testé	BLSE	= Béta-lactamase à spectre étendu
R	= Résistant	POS	= Positif	Blac	= Béta-lactamase positif
CMI	= mcg/ml (mg/l)	NEG	= Négatif	TFG	= Souche Thymidine dépendante

S*	= Interprétation sensible prédite
R*	= Interprétation résistant prédite
EBL?	= BLSE soupçonnées Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases
IB	= Béta-lactamase induisible Apparaît à la place de quel Sensible/quot avec des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases induisibles, peut s'avérer devenir résistant à tous antibiotiques bêta-lactamines Le suivi des patients pendant/après la thérapie est recommandée. Eviter les autres/combinaisons antibiotiques bêta-lactamines

* = Interprétation modifiée reportée

Pour les isolats d'hémocultures et LCR, un test bêta-lactamases est recommandé pour l'espèce Enterococcus

RUO Les résultats non validés ne sont pas destinés à un usage clinique

NOM	[REDACTED]	Échantillon	9554	Statut	Terminé
ID patient	2674	Prélèv.	URINE	Date de sta...	11/04/2019
Date de naiss...		Sce/Cham...	/	Recueilli	

Imprimé le 30/05/2019 12:58 Page 1 de 1 Technicien:

*Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif ubiquitaire, elle survit particulièrement dans les milieux humides et hospitaliers, elle provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles. Au cours de notre étude, 712 souches de *P. aeruginosa* ont été isolées dont 28,08% proviennent du service de réanimation, elles provenaient plus dans les échantillons des hommes 54,77%, Ces pathogènes ont été isolés essentiellement à partir des prélèvements de pus 38,20%, d'urine 31,46% et de sang 13,06%. L'antibiogramme a révélé une absence totale de résistances contre la Colistine, l'antibiotique le plus actif (44,94 %) était la Ciprofloxacine et le moins actif était Aztréonam (17,13%). les phénotypes de résistance ont été détectés notamment la résistance par production de Carbapénémases (6,03%) et les Bêtalactamines à spectre étendu (6,88%).

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa*, Infection, les phénotypes de résistance.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine (CHUC).

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. OULMI LAMIA (Maître de conférences B - UFM Constantine),

Rapporteur : Mr. LAOUAR HOCINE (Professeur en microbiologie - CHU Constantine),

Examineur : Mle. MEZIANI MERIEM (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 02/07/2019