

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche scientifique

République du Mali
Un Peuple-Un But-Une Foi

Université des Sciences, des Techniques et
des Technologies de Bamako



FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

N° _____/

THESE

**SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES
SOUCHES DE *PSEUDOMONAS
AERUGINOSA* ISOLEES DE 2004 A 2009
AU CHU DU POINT G**

Présentée et soutenue publiquement le 25/11/2019 devant la
Faculté de Pharmacie

Par Mme Alima TRAORE

**Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)**

JURY

Président : Pr Ababacar I MAIGA

Membres : Pr Saharé FONGORO

Dr BOCOUM Fatoumata DAOU

Directeur : Pr Ibrahim Izetiégouma MAIGA

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je dédie ce travail

➤ **A mon père : Mamadou Traoré**

Tu représentes pour nous l'exemple de la bonté et du travail

Ce travail est le fruit de tes incessants efforts et sacrifices pour parfaire notre éducation. Les mots me manquent pour exprimer toute ma fierté qui n'égale que l'accomplissement total de ton devoir de père. Tu n'as cessé de nous encourager tout au long de nos études surtout aux moments les plus difficiles. Reçois par ce travail une récompense de tes années, de sacrifices et de foi en une vision objective de ce monde.

Que Dieu puisse vous permettre de jouir du fruit de ton labeur.

➤ **A ma mère : Aoua Coulibaly**

Femme humble, généreuse, honnête et travailleuse.

Ce travail est le fruit de tes longues années de patience, d'efforts et de sacrifices pour parfaire notre éducation et notre instruction. Tu n'as cessé de m'encourager tout au long de mes études et surtout aux moments les plus pénibles.

Tes bénédictions seront toujours pour moi la lampe qui illumine la voie devant, m'indiquer le chemin de l'honneur.

Puisses-tu oublier un instant ces peines et recevoir ce jour comme la récompense qui te revient de droit.

Que Dieu puisse vous permettre de jouir du fruit de ton labeur.

➤ **A mon adorable époux : M. Zakaria Savadogo**

➤ Je ne saurai quoi faire sans ton soutien. Tes conseils m'ont été très bénéfiques. Tu as été présent tout au long de ce travail. Je prie Allah pour que ce travail nous unisse davantage ; vois-en la preuve de mon amour et de ma fidélité pour toi. J'espère qu'il nous aidera à garder un foyer exemplaire.

➤ **A mes frères et sœurs, cousins, cousines**

Pour exprimer toute notre affection fraternelle et fidèle attachement, courage et persévérance pour demeurer unis afin de porter haut le flambeau de la famille et faire honneur à nos parents. Qu'ALLAH le tout puissant par son essence et son excellence préserve davantage nos liens fraternels.

➤ **A toutes mes Tantes et oncles dont Lassine Dembélé :** vous avez toujours été la lanterne qui a éclairé notre chemin. Puisse ce travail vous honorer et vous témoigner de notre admiration profonde et de notre affection filiale.

REMERCIEMENTS

A ALLAH

- Le Tout Puissant qui n'a jamais cessé de me guider et m'a permis de réaliser tout ce parcours.
- A Lui soit la gloire éternelle ou infinie car mes mots ne pourront s'exprimer ce qu'Il a accompli dans ma vie.
- **A mon pays, le Mali** : qui a fait de moi ce que je suis.
- A tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de ce travail, particulièrement au personnel du laboratoire biologique et d'hygiène hospitalière au CHU du point G.
- **Aux Docteurs Drissa Koné, Djibril Coulibaly, Oumar DICKO et Aminata Maiga** : je n'oublierai jamais les moments agréables passés ensemble au laboratoire du point G. Votre soutien indéfectible restera gravé dans ma mémoire.
- **A Toute la promotion Feu Pr Albert Yénimegué Dembélé** : Ce fût un plaisir pour nous de vous avoir comme compagnons.
- **A mes amis** : Arboncana Maiga, Awa Kansaye, Fatoumata Sanogo, Mahaoua Konaté, Mohamed El moctar Kelly, Moumini Ouattara, Joui Sangaré, Drissa Traoré, Albacaye Sember.

A tous ceux qui nous ont aidé et soutenu dont nous n'avons pu citer ici le nom...

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Ababacar I. MAIGA

- **Professeur titulaire de Toxicologie à la FAPH ;**
- **Vice Doyen de la FAPH ;**
- **Enseignant chercheur .**

Nous sommes sensibles au grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de cette thèse malgré votre emploi du temps surchargé, cela témoigne encore de l'intérêt que vous accordez à notre formation. Veuillez recevoir, cher maître, l'expression de notre haute considération.

Aux membres du jury

Professeur Saharé FONGORO

- **Professeur de néphrologie ;**
- **Chef de service de néphrologie et d'hémodialyse au CHU du Point G ;**
- **Praticien hospitalier au CHU du Point G ;**
- **Officier de l'ordre de mérite de la Santé.**

Nous sommes très reconnaissants de l'honneur que vous nous faites en acceptant de faire partie de ce jury et de juger ce travail malgré vos nombreuses obligations,

Vous avez d'admirables qualités scientifiques, sociale et morale. Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre profond respect.

A notre maître et juge de thèse

Docteur Bocoum Fatoumata DAOU

- **Pharmacien hospitalier au CHU du Point G ;**
- **Assistante de pharmacologie à la faculté de pharmacie.**

Vous n'avez ménagé aucun effort pour accepter de faire partie des membres du jury de cette thèse,

Votre simplicité, votre humilité, votre rigueur dans le travail et votre dévouement font de vous un exemple pour les jeunes. Soyez rassurer, cher maître, de notre profonde gratitude et sincère respect.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Ibrahim Izetiégouma MAIGA

➤ **Professeur de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Médecine et
d’Odontostomatologie de Bamako ;**

➤ **Chef de service du Laboratoire de biologie médicale et Hygiène hospitalière au CHU
du Point G.**

Cher maitre, votre simplicité et votre modestie font de vous un homme admirable.

Vous nous avez accueilli dans votre service et nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de cette thèse.

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez accordée en nous proposant ce travail. Vous avez su toujours trouver le temps nécessaire pour suivre l’évolution de ce travail et étiez là par vos conseils pour apporter votre aide lorsque besoin survient. Vous constituez pour nous un repère par votre rigueur et votre attachement au travail bien fait, et c’est avec un réel plaisir que nous vous exprimons toute notre gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

P.a : *Pseudomonas aeruginosa*

MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight
(spectromètre de masse)

Ag O : Antigène O

PCR : Polymérase Chain Reaction

RAPD : Marqueurs (amorce de séquence arbitraire)

ERIC-PCR : Enterobacterial repetitive intergenic consensus

MLVA : Acronyme pour multiple Loci

MLST : Multilocus Sequence Typing

C1G : Céphalosporine de première génération

C2G : Céphalosporine de deuxième génération

MexAB-OprM : Etude structurale et fonctionnelle de la pompe d'efflux

PSE : Polysaccharide extracellulaire

OXA : oxacillinase

BLSE : β-lactamase à spectre élargi

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines

LCR : liquide céphalo -rachidien

SO₂NH₂ : Aminosulfonyl

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

TABLE DES MATIERES

Table des matières

I. Introduction	2
Objectif général :	3
Objectifs spécifiques :	3
II. Généralités	5
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2.2. Sensibilités aux antibiotiques :	9
2.3. Prévention et bases du traitement :	15
2.4. Thérapeutique :	15
2.5. Antibiotique	15
III. Matériel et méthodes	30
3.1. Lieu de travail	30
3.2. Type et période d'étude	30
3.3. Echantillonnage	30
3.4. Identification	30
3.5. Étude de la sensibilité	32
3.7. Analyse des données	35
IV. Résultats	37
V. Discussion	53
VI. Conclusion :	57
VII. Recommandations	59
REFERENCES	61
ANNEXES	65

Liste des Tableaux :

Tableau I: Caractéristiques morphologiques et biochimiques des espèces du genre <i>Pseudomonas</i>	7
Tableau II: Récapitulatif des phénotypes de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux bêta-lactamines.....	10
Tableau III: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction du prélèvement.....	37
Tableau IV: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de l'origine.....	38
Tableau V: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de l'année	
39Tableau VI: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité aux antibiotiques	
40Tableau VII: Sensibilité aux antibiotiques de 173 souches hospitalières de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Tableau VIII: Sensibilité aux antibiotiques de 58 souches externes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Tableau IX: Distribution de 228 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité à la ticarcilline et de l'origine.....	43
Tableau X: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité à la ceftazidime et de l'origine.....	43
Tableau XI : Distribution de 225 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité à la gentamicine et de l'origine.....	44
Tableau XII: : Distribution de 224 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité à l'amikacine et de l'origine.....	44
Tableau XIII: Distribution de 230 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité à la ciprofloxacine et de l'origine.....	45
Tableau XIV: Distribution de 226 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction de la sensibilité aux sulfamides et de l'origine.....	45
Tableau XV: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction du phénotype.....	46
Tableau XVI: Distribution des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction du phénotype et de l'origine.....	47
Tableau XVII: Distribution des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction du phénotype et du prélèvement.....	48

Tableau XVIII: Distribution de 231 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction du phénotype et de l'origine.....	49
Tableau XIX: Sensibilité comparée aux antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> hyperproductrices de céphalosporinase et des souches productrices de céphalosporinase inducible	50
Tableau XX: Evolution de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51

Liste des Figures :

Figure 1 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique [10].....	6
Figure 2: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [17]	12
Figure 3 : Structures chimiques de la ceftazidime et du céfotaxime.....	19
Figure 4: Structure chimique des quinolones	23
Figure 5: Structure chimique de la doxycycline.....	25

INTRODUCTION

I. Introduction :

Pseudomonas aeruginosa ou bacille pyocyanique est un bacille à Gram négatif, aérobic strict, capable de survivre dans l'environnement. *Pseudomonas aeruginosa* est aujourd'hui clairement reconnu comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients affaiblis, ainsi que dans le cadre de la mucoviscidose [1].

Au cours des dernières décennies *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie opportuniste, s'est imposé comme un pathogène hospitalier très important du fait du nombre et de la gravité des infections causées. L'enquête nationale de prévalence de 2006 attribue à *Pseudomonas aeruginosa* la responsabilité de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales en France, le plaçant ainsi au 3^{ème} rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [2].

En milieu hospitalier, les services de soins intensifs sont des unités à potentiel endémique élevé pour cette bactérie, qui est à l'origine de 18 % des infections nosocomiales contre seulement 6 % dans les services de médecine et de chirurgie en France [3].

Le fait le plus inquiétant des dernières années est le signalement de plus en plus fréquent aux souches de *Pseudomonas aeruginosa* à de nombreux antibiotiques, il est naturellement résistant à plusieurs antibiotiques dont les pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés), les céphalosporines de première et deuxième génération, le chloramphénicol et au triméthoprime. À cette résistance naturelle s'ajoute des résistances acquises qui constituent toute la problématique de cette bactérie notamment en milieu hospitalier et de plus en plus en milieu communautaire acquis à l'hôpital. Ces résistances acquises concernent les céphalosporines de troisième génération, les fluoroquinolones, l'amikacine et les autres aminosides [4].

Ces bactéries multirésistantes constituent, un problème majeur de santé publique, d'autant plus que très peu de nouvelles molécules sont mises sur le marché par l'industrie pharmaceutique. Ainsi, plusieurs auteurs ont tiré la sonnette d'alarme face à l'imminence de « l'ère post-antibiotique » [5, 6].

Le Mali à l'instar d'un certain nombre de pays connaît une augmentation de la résistance aux antimicrobiens avec 14 % de résistance en 2011 [7].

C'est pourquoi nous avons entrepris ce travail afin de mieux fournir la littérature sur l'évolution de la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* au centre hospitalier universitaire du Point G.

Les objectifs de notre étude ont été les suivants :

Objectif général :

Etudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de 2004 à 2009 dans divers prélèvements au laboratoire du CHU du Point G.

Objectifs spécifiques :

- Etudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'origine ;
- Identifier les différents phénotypes de résistance aux β -lactamines de *Pseudomonas aeruginosa* ;
- Etudier la sensibilité aux antibiotiques des principaux phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* ;
- Etudier l'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

GENERALITES

II. Généralités :

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1. Historique

Isolé en 1882 par Carle Gessard à partir du pus bleu d'infections cutanées post-chirurgicales, *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) était tenu pour responsable d'infections graves uniquement observées en milieu chirurgical. Cependant, avec l'ère des antibiotiques, le bacille pyocyanique a émergé comme une cause majeure d'infections nosocomiales. Actuellement, cette bactérie opportuniste serait la cause de 10 à 20 p. 100 des infections observées en milieu hospitalier. Son extrême résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques explique que cette bactérie ubiquitaire très répandue dans l'environnement soit suivant sélectionnée et puisse coloniser la peau et les muqueuses de malades souvent fragilisés par une chimiothérapie ou une intervention chirurgicale [8].

2.1.2. Description [9] :

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large (**Figure 1**).

Bien que ce pathogène aérobic strict aie un métabolisme oxydatif, non fermentaire, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobic. *P. aeruginosa* est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle polaire. Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive. Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone. *P. aeruginosa* est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. La morphologie de *P. aeruginosa*, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique.

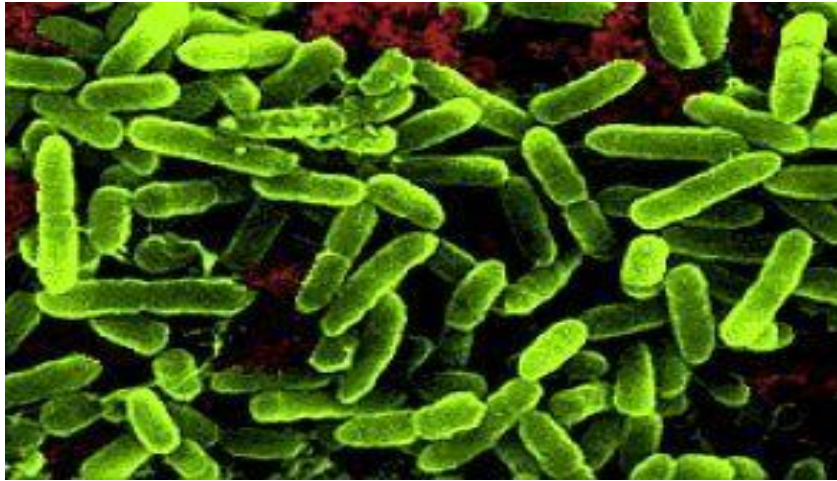


Figure 1 : *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique [10]

2.1.3. Caractères cultureux [11]

P. aeruginosa cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringine. La température optimale de croissance est de 30 °C.

Pour les souches pigmentées (95 %), les milieux de King A et King B permettent une identification de *P. aeruginosa* par la mise en évidence de la production de deux pigments : la pyocyanine (hydrosoluble) et la pyoverdine (soluble dans le chloroforme), respectivement. D'autres pigments hydrosolubles peuvent être produits parfois de manière transitoire : la pyomélanine brune et la pyorubrine rouge.

À partir de prélèvements polymicrobiens, il est nécessaire d'avoir recours à un milieu sélectif contenant du cétrimide (ammonium quaternaire) associé ou non à de l'acide nalidixique.

2.1.4. Identification

Pour *P. aeruginosa*, devant des souches non pigmentées, le recours à des galeries est nécessaire, mais les résultats obtenus avec celles-ci sont parfois erronés et de plus en plus souvent on doit recourir à d'autres méthodes (séquençage, MALDI-TOF) pour obtenir un diagnostic d'espèces précis, notamment pour les souches isolées de patients atteints de mucoviscidose. Les caractères différentiels avec les autres espèces du groupe fluorescent et du genre sont indiqués dans le **tableau I**.

Tableau I: Caractéristiques morphologiques et biochimiques des espèces du genre Pseudomonas.

Espèces	Caractère	Pigment	Nombre flagelle	Oxydase	Croissance		Réduction NO3-	ADH	Hydrolyse		
					à 41 °C	à 4 °C			Gélatine	Lécithinase	Urée
<i>P. aeruginosa</i>		PC + PvC	1	+	+	-	+	+	+	v	v
<i>P. fluorescens</i>		pv	>1	+	-	+	-	+	+	+	v
<i>P. putida</i>		pv	>1	+	-	+	-	+	-	-	-
<i>P. monteilii</i>		pv	>1	+	-	-	-	+	-	-	v
<i>P. alcaligenes</i>		C	1	+	v	+	v	-	-	-	-
<i>P. pseudoalcaligene</i>			1	+	+	+	+	v	-	-	-
<i>P. stutzeri</i>		C	1	+	v	+	+	-	-	-	-
<i>P. mendocina</i>		C	1	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>P. luteola</i>		C	>1	-	+	+	v	+	V	-	v
<i>P. oryzihabitans</i>		C	1	-	v	+	-	-	-	-	v

+ : positif, – : négatif, V : variable, ND : non déterminé.

Réaction importante

a Appelé aussi *Chryseomonas luteola* (ancien CDC group Ve–1).

b Appelé aussi *Flavimonas oryzihabitans* (ancien CDC group Ve–2)

c PC (pyocyanine), PV (pyoverdine), C (caroténoïde) .

2.1.5. Marqueurs épidémiologiques :

Quand plusieurs infections dues à une même espèce bactérienne surviennent dans un service hospitalier, il faut vérifier s'il s'agit d'une épidémie ; dans ce cas la même souche est à l'origine de toutes les infections et toutes les bactéries isolées possèdent les mêmes caractéristiques. Certains éléments phénotypiques, suffisamment discriminant, peuvent dans ce but, être utilisé comme « marqueurs épidémiologiques ». En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa*, les méthodes phénotypiques disponibles sont :

- La sérotypie des Ag O et l'antibiotypie utilisées lors d'une première approche. La sérotypie est une réaction d'agglutination sur lame réalisée à partir de colonies prélevées sur gélose qui individualise 16 sérotypes avec le kit le plus utilisé (Biorad). Il existe des réactions croisées entre sérogroupes (souche polyagglutinable) et 10 % des souches sont non agglutinables (souches muqueuses notamment).

-L'antibiotypie est un marqueur peu discriminant, surtout pour différencier des souches impliquées dans des pathologies chroniques chez des patients soumis à des antibiothérapies répétées qui peuvent avoir une influence sur les résultats de l'antibiogramme.

Les méthodes génotypiques font appel à des techniques développées dans le chapitre concernant la biologie moléculaire à des fins diagnostiques et épidémiologiques. La méthode de référence est l'électrophorèse en champs pulsé.

Cependant, cette méthode lourde à mettre en œuvre est souvent précédée par des méthodes utilisant la PCR (par exemple RAPD, ERIC-PCR, rep-PCR, PCR-ribotypie, MLVA et MLST).

2.1.6. Caractères biochimiques :

Pseudomonas aeruginosa n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Les milieux

MEVAG (Milieu pour Etude de la voie Attaque des Glucides) ou de Hugh et Leifson sont spécialement destinés à mettre cette propriété en évidence.

Pseudomonas aeruginosa possède une oxydase.

Pseudomonas aeruginosa est capable d'utiliser de nombreux substrats carbonés comme seule source de carbone et d'énergie : glucose, acide lactique, acide acétique, arginine, citrate, malonate.....

La réalisation d'un test d'assimilation des substrats carbonés ou auxanogramme est utile pour reconnaître l'espèce et différencier les biotypes...

2.1.7. Transmission [12] :

Elle peut se faire à partir des sources environnementales, soit directement, soit par l'intermédiaire de matériels lavés ou rincés à l'eau du réseau. Elle peut aussi être interhumaine à partir d'un sujet colonisé. La pression de sélection des antibiotiques en milieu hospitalier augmente probablement le risque de colonisation.

2.1.8. Pouvoir pathogène :

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries.

Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les sujets atteints de mucoviscidose), pulmonaires (chez les immunodéprimés ou les malades ventilés), oculaires (kératite ou endophtalmie), ostéo-articulaires.

Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes (pouvant évoluer de manière invasive chez les sujets âgés et diabétiques), des septicémies (en particulier chez les neutropéniques), des endocardites (chez les toxicomanes).

2.1.9. Facteurs de pathogénicité :

P.aeruginosa possède des fimbriae qui permettent l'adhésion aux muqueuses.

Les souches qui colonisent les bronches des enfants atteints de mucoviscidose sont entourées d'une pseudo-capsule polysaccharidique qui donne un aspect muqueux aux colonies bactériennes. Ce constituant augmente l'adhésion de la bactérie et exerce une action antiphagocytaire. La bactérie produit plusieurs toxines cytotoxiques : deux hémolysines et l'exotoxine A dont le mode d'action est similaire à celui de la toxine diphtérique.

2.2. Sensibilités aux antibiotiques :

P. aeruginosa est réputé pour sa résistance aux antibiotiques qui pose de sérieux problèmes thérapeutiques et favorise sa dissémination en milieu hospitalier. La résistance naturelle du

bacille pyocyanique relève d'une mauvaise perméabilité de la membrane externe et de la production constante d'une bêta-lactamase inductible.

2.2.1. Résistance naturelle :

La résistance aux β -lactamines est liée à plusieurs mécanismes :

-Production d'une céphalosporinase chromosomique inductible du gène AmpC : responsable de la résistance à l'amoxicilline, la céfalotine, la céfoxitine, la ceftriaxone, au céfotaxime et à l'ertapénème [13].

-Faible perméabilité membranaire aux β -lactamines, due à la taille insuffisante des porines [14].

- Système d'efflux membranaire MexAB-OprM, capable d'exporter les antibiotiques en dehors de la cellule. Cette pompe à efflux est composée de trois protéines MexA, MexB et OprM incorporées dans les membranes interne et externe de la paroi bactérienne [15].

Phénotypes de résistances [16] :

Les principaux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines de *P. aeruginosa* sont présentés au tableau II

Tableau II: Récapitulatif des phénotypes de résistance de Pseudomonas aeruginosa aux bêta-lactamines.

Phénotype de résistance	TIC	PIP	CFP	CFS	CAZ	ATM	CPI	IPM
Pénicillinase	R	R	R	R	S	S	S	S
Céphalosporinase hyperproduite								
o "modérée"	R	R	R	R	R	R	S	S
o haut niveau	R	R	R	R	R	R	R	S
Imperméabilité	R	V	V	V	S	S	S	S
Porine D2	S	S	S	S	S	S	S	R

TIC = ticarcilline ; PIP = pipéracilline ; CFP = céfopérazone; CFS = cefsulodine ; CAZ = ceftazidime ; ATM= aztréonam ; IPM = imipénème ; CPI = céfépime ; R = résistant ; S = sensible ; V = sensibilité variable, incluant la possibilité d'une sensibilité diminuée.

Les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines rapportés au tableau II sont les suivants :

- **Phénotype sauvage** : Les souches de phénotype sauvage sont résistantes aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, mais sensibles aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines, à la ceftazidime, à la cefsulodine, la céfopérazone, à l'aztréonam, au latamoxef, au céfépime et à l'imipénème.
- **Phénotype "pénicillinase"** : Il est lié à la production de bêta-lactamase de type PSE, TEM ou OXA. Les souches de phénotype « pénicillinase » sont résistantes aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines, à la céfopérazone et à la cefsulodine. Elles sont sensibles au latamoxef, à l'aztréonam, la ceftazidime, l'imipénème et au céfépime.
- **Phénotypes céphalosporinase hyperproduite** (figure 2) :
La production de cette enzyme est inductible ou résulte d'une dérégulation stable consécutive à une mutation. L'apparition récente de céphalosporines de 3^e génération est beaucoup plus sensible aux céphalosporinases tel le céfépime, oblige à différencier deux phénotypes :
 - "céphalosporinase hyperproduite" modérément : résistance à toutes les bêta-lactamines, sauf au céfépime et à l'imipénème ;
 - "céphalosporinase hyperproduite" à très haut niveau : résistance à toutes les bêta-lactamines sauf à l'imipénème.
- **Phénotype "impermeabilité"** : Les souches du phénotype "impermeabilité" sont résistantes aux carboxypénicillines, mais de sensibilité variable aux uréidopénicillines à la cefsulodine et à la céfopérazone. La ceftazidime, le céfépime et l'aztréonam sont souvent actifs. L'activité de l'imipénème est constante.
- **Phénotype "mutant de porine D2"** : Ce phénotype est caractérisé par une résistance isolée à l'imipénème.

En ce qui concerne les fluoroquinolones, il faut retenir que les souches sensibles ou intermédiaires à la péfloxacin, la norfloxacin ou l'ofloxacin sont sensibles à la ciprofloxacine.



Figure 2: *Pseudomonas aeruginosa* [17]

2.2.2. Les résistances acquises

Elles sont dues à une imperméabilité accrue de la membrane externe (modification des porines) ou à la production d'enzyme inactivante. Ces deux mécanismes peuvent coexister et conjuguer leurs effets.

➤ Résistance acquise aux β -lactamines

a- Résistance enzymatique :

- Acquisition de pénicillinases plasmidiques [18] : Ces pénicillinases confèrent une résistance aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines et à la cefsulodine mais la sensibilité à la ceftazidime, l'aztréonam et l'imipénème est conservée.
Il existe un risque d'induction de céphalosporinase (réversible) avec les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique).
- Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC par mutation d'un gène de régulation : « céphalosporinase dérèprimée » [19] : Les souches, ainsi modifiées, deviennent résistantes à toutes les bêta-lactamines sauf les amidinopénicillines (mécillinam, pivmécillinam) et les carbapénèmes. La mutation peut survenir inopinément au cours d'un traitement et entraîner des échecs thérapeutiques. Il existe différents niveaux de dérèpression de la céphalosporinase (la plupart des souches ne sont que partiellement dérèprimées), et le niveau de résistance

est proportionnel à la quantité d'enzyme produite. Ce mécanisme ne doit pas être confondu avec l'induction d'une céphalosporinase par les inhibiteurs de β -lactamases chez des souches sauvages, qui rendent alors l'association (inhibiteur de β -lactamases + céphalosporine) antagoniste.

- Acquisition d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE) [20] :

Ce sont des enzymes plasmidiques qui hydrolysent toutes les bêta-lactamines sauf les carbapénèmes. L'activité des β -lactamines restaurée théoriquement par les inhibiteurs de β -lactamases. Elles sont très rarement rapportées chez *P. aeruginosa* (contrairement à *Klebsiella*).

- Carbapénémases [21] : Ce sont des métalloprotéines chromosomiques ou plasmidiques conférant une résistance aux carboxypénicillines, aux céphalosporines et à l'aztréonam, ainsi qu'un bas niveau de résistance à l'imipénème. Les carbapénémases sont redoutables car elles induisent une résistance de haut niveau à toutes les bêta-lactamines.

La sensibilité à la pipéracilline et à l'aztréonam est conservée.

En cas d'association de ce mécanisme à un mécanisme d'imperméabilité, on obtient un haut niveau de résistance à l'imipénème. La détection des carbapénémases par les techniques bactériologiques de routine n'est pas aisée, ce qui augmente les difficultés de surveillance épidémiologique.

b- Résistance non enzymatique :

- Acquisition par mutations de systèmes d'efflux actif [22] : Les mutations aboutissent à la surproduction des pompes transmembranaires permettant d'expulser l'antibiotique hors de la bactérie, en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique. Le niveau de résistance est moindre que chez les souches productrices de β -lactamases. Certaines souches ne sont résistantes qu'à la ticarcilline, cette résistance n'étant pas restaurée par les inhibiteurs de β -lactamases. La plupart des souches restent sensibles à la pipéracilline et à la ceftazidime.

Parmi les carbapénèmes, seul le méropénème peut être affecté par un mécanisme d'efflux.

- Mutation de la porine D2 (mutants oprD) [23] : La porine sert comme un canal d'entrée de l'imipénème. L'association d'une hydrolyse partielle par la céphalosporinase chromosomique et la mutation de la porine induisent une résistance sélective à l'imipénème. La sensibilité au méropénème est conservée.

2.2.2.1. Résistance acquise aux aminosides

La résistance aux aminosides concerne par ordre de fréquence décroissante :

La gentamicine, la tobramycine, la nétilmicine, et l'amikacine. La corésistance avec les β -lactamines et les fluoroquinolones est fréquente, surtout pour le sérotype O12 [24].

Il existe 2 mécanismes différents de résistance aux aminosides :

- Résistance enzymatique : C'est l'acquisition d'enzymes plasmidiques inactivatrices des aminosides. Ce sont les aminoacétyltransférases (AAC), nucléotidyltransférases (ANT) et phosphotransférases (APH) [25].
- Imperméabilité : C'est la diminution des mécanismes de transport actif de l'antibiotique dans la bactérie, responsable d'une résistance de bas niveau à tous les aminosides. On peut en rapprocher la résistance adaptative aux aminosides consistant en une résistance réversible apparaissant 2 heures après une première exposition de la bactérie à un aminoside et disparaissant en l'absence de celui-ci, liée à une baisse de pénétration par baisse de la force proton motrice [26].

2.2.2.2. Résistance acquise aux fluoroquinolones [27]

Elle est en progression actuellement, et peut survenir selon 3 mécanismes :

- Modification d'affinité de la cible : Des mutations des sous-unités A et B de l'ADN-gyrase ou de la sous-unité C de la topo-isomérase IV, sont responsables d'une augmentation des CMI, d'intensité variable selon les mutants.
- Troubles de la perméabilité : par modification des porines ou du LPS.
- Efflux actif : Comme nous l'avons vu précédemment, il existe une résistance croisée de bas niveau aux fluoroquinolones avec la résistance aux β -lactamines par efflux. Ainsi de faibles concentrations de fluoroquinolones peuvent sélectionner des mutants résistants aux 2 familles d'antibiotiques. Plusieurs mécanismes coexistent la plupart du temps (notamment l'association de la mutation de gyrase A et d'un efflux), pouvant être responsables d'une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones.

2.2.2.3. Résistance acquise à la fosfomycine [28]

Elle est fréquente : 70 à 80 % des souches.

Les souches O:12 sont paradoxalement fréquemment sensibles à la fosfomycine, contrastant avec leur multirésistance aux autres antibiotiques.

Les mécanismes de résistance sont :

- Défaut de transport de l'antibiotique
- Enzymes inactivatrices Glutathion transférase, hydrolase ...

2.3. Prévention et bases du traitement : [12]

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.

P. aeruginosa possède une résistance naturelle à de nombreuses β -lactamines.

Les souches sauvages sont sensibles aux uréido-pénicillines, à certaines céphalosporines de 3^{ème} 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.

2.4. Thérapeutique :

Aujourd'hui, la stratégie d'antibiothérapie doit être définie de façon très spécifique que ce soit sur le plan qualitatif (choix des antibiotiques) ou sur le plan quantitatif (doses et rythmes de consommation). L'antibiothérapie de première intention repose sur les antibiotiques les plus actifs et administrés le plus souvent en association pour éviter à tout prix l'émergence de résistance, mais aussi pour obtenir un effet bactéricide [29]

2.5. Antibiotique : [30-33]

2.5.1. Définition :

Pendant longtemps, on a appelé antibiotique (terme créé par Selman WAKSMAN) toute substance chimique produite par un micro-organisme, champignon (*Penicillium*, *Cephalosporium*) ou bactérie (*Bacillus* et surtout *Streptomyces*), pouvant inhiber la croissance ou détruire d'autres micro-organismes. Cette définition est aujourd'hui trop restrictive et doit être abandonnée car des molécules obtenues par synthèse ou par modification chimique d'une molécule naturelle peuvent être douées des mêmes propriétés.

Un antibiotique est donc actuellement défini comme une substance, d'origine biologique ou synthétique, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (agents antibactériens) ou des champignons (agents antifongiques)

2.5.2. Historique

- **1877 : PASTEUR** et **JOUBERT** observent qu'un micro-organisme se multiplie mal dans un liquide envahi de moisissures.

- **1897 : Ernest DUCHESNE** observe que les palefreniers, pour éviter que les plaies de leurs chevaux ne s'infectent les enduisent de moisissures recouvrant les cuirs placés dans les endroits chauds, humides et sombres des écuries.

Il décrit ainsi l'inhibition de la croissance des micro-organismes par une moisissure : un *Penicillium*.

– **1929** : **FLEMING** découvre un *Penicillium* sur une boîte de Pétri. Il met en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de *Penicillium*.

-**1940** : **CHAIN** obtient une forme stable et utilisable in vivo (essais sur des souris) de la pénicilline, d'où l'élaboration de la pénicilline.

-**1942** : C'est la production industrielle de la pénicilline qui sera utilisée et bénéfique pendant la seconde guerre mondiale.

2.5.3. Les bêta-lactamines

2.5.3.1. Définition

Les bêta-lactamines sont constituées de molécules à activité antimicrobienne caractérisées par la présence d'une fonction amide cyclisée (cycle bêta-lactame), qui est responsable de l'activité antibactérienne.

2.5.3.2. Mécanisme d'action

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne. Les transpeptidases et carboxypeptidases, enzymes associées à la membrane cytoplasmique, fixent de façon covalente ces antibiotiques. Cette liaison est due à une analogie structurale entre le substrat naturel de ces enzymes, l'acyl-D-alanyl-D-alanine et le cycle bêta-lactame. Ces enzymes qui lient les pénicillines et les céphalosporines, sont également dénommées protéines de liaison aux pénicillines (PLP).

La nature de ces PLP est relativement spécifique d'espèce et leur nombre varie d'une espèce bactérienne à une autre. Chacune a une fonction bien définie, mais une ou plusieurs d'entre elles jouent un rôle prépondérant dans la synthèse du peptidoglycane.

Les bêta-lactamines atteignent facilement leur cible chez les bactéries à Gram positif car la diffusion de ces molécules à travers le peptidoglycane se fait passivement.

En revanche, chez les bactéries à Gram négatif, ces antibiotiques doivent, avant de diffuser dans le peptidoglycane, franchir la membrane externe hydrophobe. Le passage à travers cette barrière des bêta-lactamines, composés généralement hydrophiles, se fait par l'intermédiaire de véritables canaux protéiques, les porines.

2.5.3.3 Mécanisme de résistance

❖ La résistance acquise des bactéries aux bêta-lactamines peut être la conséquence de trois mécanismes distincts :

- l'inactivation de la molécule par une enzyme ouvrant le cycle bêta-lactame (bêta-lactamase) ;

- l'imperméabilité de la paroi à l'antibiotique ;
- la modification de l'affinité des PLP pour l'antibiotique.

Chez les bactéries à Gram négatif, les bêta-lactamases sont très nombreuses dans le monde bactérien et sont localisées dans l'espace périplasmique, alors que chez les bactéries à Gram positif, elles sont sécrétées dans l'environnement bactérien.

Schématiquement, les bêta-lactamases peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases. Les pénicillinases hydrolysent préférentiellement les pénicillines, tandis que les céphalosporinases inactivent non seulement certaines céphalosporines mais aussi les pénicillines.

Les gènes codant pour les pénicillinases sont portés par le chromosome bactérien, ou bien par des plasmides ou des transposons.

Les gènes de résistance d'information chromosomique sont non transférables et spécifiques d'espèce, alors que ceux d'information plasmidique ou liés à un transposon peuvent diffuser entre souches de même espèce, voire d'espèces différentes par transfert génétique.

Les céphalosporinases sont retrouvées uniquement chez les bactéries à Gram négatif et leur synthèse est gouvernée par des gènes chromosomiques. Chez certaines espèces bactériennes, la céphalosporinase est produite en faible quantité, mais sa production peut être augmentée en présence de l'antibiotique (céphalosporinase inductible) : l'antibiotique inhibe alors le répresseur qui normalement assure la régulation de la synthèse de l'enzyme.

L'imipénème, la céfoxitine, l'acide clavulanique sont de puissants inducteurs alors que la pipéracilline et la céfopérazone sont peu inducteurs. Plus rarement, une céphalosporinase peut être « déréprimée », comme cela a été observé pour certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Enterobacter*, de *Citrobacter* et de *Serratia*. Dans ce cas, le répresseur est inactif ou bien l'opérateur est devenu insensible au répresseur par mutation chromosomique : la céphalosporinase est alors produite indépendamment de la présence de la bêta-lactamine. La possibilité de sélectionner au cours d'un traitement par une céphalosporinase des mutants « déréprimés » existe donc et rend impérative l'association de cette céphalosporine avec un autre antibiotique (aminoside par exemple).

❖ La résistance acquise aux bêta-lactamines par modification de la cible, c'est-à-dire des PLP, est observée surtout avec les bactéries à Gram positif. Elle peut être la conséquence d'une modification de la structure d'une PLP essentielle, entraînant une réduction de son affinité pour l'antibiotique ou de l'augmentation importante de la synthèse d'une PLP essentielle qui ne peut être saturée que par une quantité plus importante d'antibiotique. Il peut aussi s'agir de l'apparition d'une PLP qui, fonctionnellement, se substitue à une ou

plusieurs PLP essentielles et dont l'affinité pour l'antibiotique est faible. L'association de ces mécanismes est possible. Ce type de résistance est dû à une mutation de gènes chromosomiques ou à l'acquisition de nouveaux gènes par transfert génétique. La résistance peut être liée à une mutation chromosomique affectant la synthèse d'une porine ou d'un lipopolysaccharide, réduisant ainsi la perméabilité de la membrane externe et perturbant le transport intrapariétal des bêta-lactamines : l'antibiotique ne peut plus atteindre sa cible.

Le système d'efflux est constitué par une pompe moléculaire qui permettrait aux bactéries d'une part de rejeter des composés toxiques endogènes, d'autre part de disposer d'un mécanisme de défense contre des substances exogènes libérées par l'environnement (antibiotique par exemple).

2.5.3.4. Les carboxypénicillines : ticarcilline

La ticarcilline est actuellement commercialisée seule ou associée à l'acide clavulanique.

La ticarcilline a un spectre d'activité plus étendu. Elle agit sur les streptocoques A, B, C, G, F, non groupables, *Streptococcus pneumoniae* pénicilline sensible, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*, *Morganella morganii*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Bacteroides fragilis*.

2.5.3.5. Les acylureidopénicillines : pipéracilline

La pipéracilline a un spectre d'activité similaire à celui de la ticarcilline.

2.5.3.6. Les céphalosporines :

1.5.3.6.1. Troisième génération

• Troisième génération : ceftazidime et céfotaxime

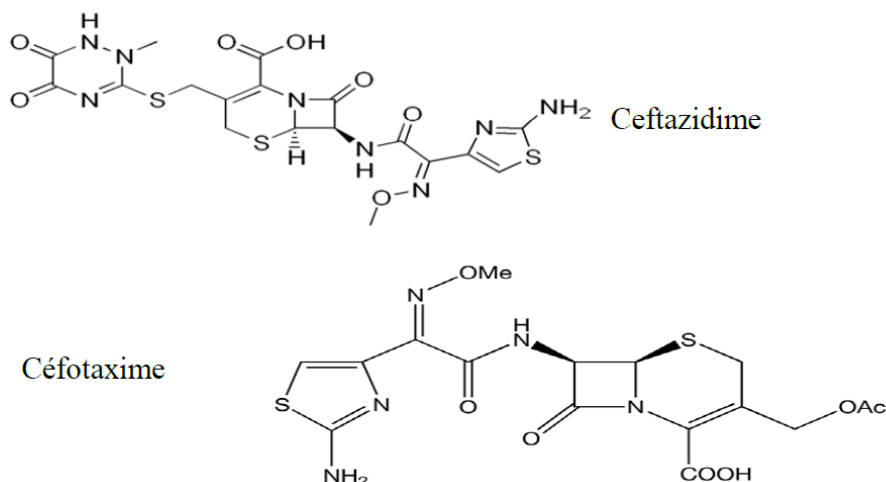


Figure 3 : Structures chimiques de la ceftazidime et du céfotaxime

C'est une céphalosporine de troisième génération caractérisée par :

- une bonne diffusion humorale et tissulaire au niveau des bronches, du LCR, de l'os, du péritoine, du muscle cardiaque, du placenta, du lait.
- une demi-vie d'élimination de 1,8 h
- l'absence de métabolisme
- une liaison aux protéines plasmatiques de 10 p. 100
- une élimination urinaire de 90 p. 100

Spectre d'activité

La ceftazime a un spectre élargi à *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia*, aux entérobactéries (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus indologènes*, *Salmonella enterica*, *Shigella*), *Haemophilus influenzae*, *Pasteurella*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella pertussis*, aux cocci à Gram négatif (*Neisseria*), aux cocci à Gram positif anaérobies stricts (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*), cocci à Gram positif (sauf Staphylocoques méticillino- résistants et Entérocoques), *Acinetobacter*, aux bactéries à Gram négatif anaérobies strictes (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Actinomyces*).

Spectre d'activité

La cefsulodine a un spectre uniquement antitypocanique.

Mode d'action : Elle inhibe la PLP, enzyme permettant la synthèse du peptidoglycane bactérien.

2.5.3.7. Les carbapénèmes : imipénème

L'imipénème est utilisée en association avec la cilastatine sodique : thiénam.

La cilastatine n'a pas d'activité bactérienne, c'est un inhibiteur compétitif réversible et spécifique de la déhydropeptidase, une enzyme rénale qui inactive l'imipénème.

Spectre d'activité

L'imipénème a un spectre d'activité très large : les cocci à Gram positif (sauf Staphylocoques méticillino-résistants), et à Gram négatif, les bacilles à Gram positif et à Gram négatif (à l'exception de *B. cepacia* et *S. maltophilia*), les bactéries anaérobies à Gram positif et négatif dont *Bacteroides fragilis*.

2.5.3.8. Les monobactams : Aztréonam

C'est une β -lactamine monocyclique administrée par voie parentérale (résorption intestinale nulle). Elle est caractérisée par :

- une demi-vie plasmatique de 1,6 à 2 h
- une fixation aux protéines plasmatiques de 56 p. 100
- un faible métabolisme
- une élimination urinaire principalement sous forme inchangée.

Spectre d'activité

Les monobactams ont un spectre étroit sur les bactéries à Gram négatif aérobies ; *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae*, *P. aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Moraxella*.

2.5.4. Les aminosides

2.5.4.1. Définition

Les aminosides-aminocyclitols sont constitués d'un ou plusieurs (habituellement deux) cycles glycosidiques liés à la streptomine ou la désoxystreptomine. La streptomine est l'aminocyclitol constitutif de la streptomycine et de la dihydrostreptomycine, premiers aminosides utilisés en thérapeutique. La désoxystreptomine peut être substituée en position 4 et 6 (groupe des 4, 6 di-O- glycosyles) ou en position 4 et 5 (groupe des 4, 5 di-O - glycosyles). Le premier groupe comprend la plupart des aminosides d'origine bactérienne : kanamycine, amikacine, gentamicine, tobramycine, dibékacine, sisomicine et nétilmicine.

NB : La nature des différents substituants portés sur les deux cycles glycosidiques et sur le noyau désoxystreptomine individualise ces différents produits.

La spectinomycine présente une structure particulière par rapport à celle des autres aminosides.

2.5.4.2. Mécanisme d'action

Le mode d'action des aminosides consiste en une inhibition de la synthèse protéique des bactéries. La streptomycine se fixe sur l'ARN 16 S de la sous-unité ribosomiale 30S. Les autres aminosides exercent des interactions sur de multiples sites ribosomiaux, certains se fixant à la fois sur les deux sous-unités ribosomiales. Alors que la streptomycine bloque la synthèse protéique principalement au stade de l'initiation, les autres aminosides agissent surtout à l'étape plus tardive de translocation.

2.5.4.3. Mécanisme de résistance

La modification de l'antibiotique par des enzymes est de loin le mécanisme de résistance bactérienne acquise le plus fréquent. A la différence des bêta-lactamases qui ont un site unique d'action, c'est - à - dire le noyau bêta- lactame, les enzymes qui modifient les aminosides ont plusieurs cibles possibles : les différents groupements hydroxyles, qui peuvent subir une réaction de phosphorylation ou d'adénylation sous l'action de O-phosphotransférases ou de O- adényltransférases ; les groupements aminés qui peuvent être acétylés par des N-acétyltransférases.

L'enzyme ne détruit pas son substrat mais le modifie de telle façon que son transport à travers la membrane cytoplasmique est inhibé : l'aminoside modifié ne peut atteindre sa cible, le ribosome.

La synthèse de ces enzymes est constitutive, c'est-à-dire non induite par la présence de l'antibiotique et plusieurs types d'enzymes peuvent coexister dans une même souche bactérienne. Elles sont largement répandues dans le monde bactérien et leur nature varie selon les espèces bactériennes. Leur synthèse est gouvernée par des gènes plasmidiques ou transposables.

Par ailleurs, les bactéries peuvent résister à l'action des aminosides par suite d'une modification de la cible (protéines ou ARN ribosomiaux) ou d'une diminution de l'incorporation de l'antibiotique. Ce type de résistance, qui est beaucoup plus rare en clinique que le premier évoqué, résulte des mutations chromosomiques.

2.5.4.4. Classification des 4,6-di-O-glycosyles :

2.5.4.4.1. Gentamicine

Elle a été isolée en 1963 de *Micromonospora purpurea*.

Spectre d'activité

La Gentamicine est active sur les staphylocoques méticillino-sensibles, les bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*), *Listeria*.

2.5.4.4.2. Amikacine

L'amikacine est une molécule obtenue par semi-synthèse à partir de la kanamycine en y adjoignant une chaîne d'acide amino-alpha-hydroxybutirique.

Spectre d'activité

Il est limité aux staphylocoques méticillino-sensibles, aux bacilles à gram négatif (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*)

2.5.4.4.3. Nétilmicine

Dérivée d'hémisynthèse, la Nétilmicine est obtenue à partir de la sisomycine par alkylation du groupe aminé en 3 .

Spectre d'activité

Elle a le même spectre avec un pourcentage de résistance compris entre celui de la Tobramycine et de l'amikacine.

2.5.4.4.4. Tobramycine

La Tobramycine est un aminoside dérivé de *Streptomyces tenebrarius*.

Spectre d'activité

Le spectre d'action de la Tobramycine est similaire à celui de la Gentamicine. *Pseudomonas aeruginosa* est plus sensible à la Tobramycine qu'à la Gentamicine.

2.5.4.4.5. La Kanamycine

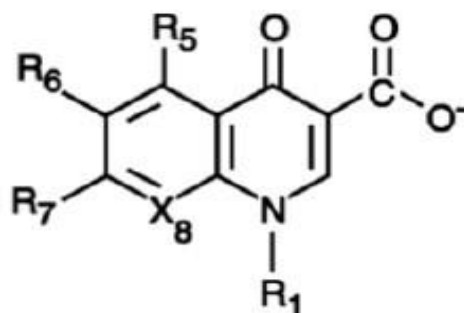
La Kanamycine a été isolée de *Streptomyces kanamyceticus* en 1957.

Spectre d'activité

Très étendu pour les bacilles et coques à Gram négatif, le spectre est nettement plus étroit dans le domaine des coques à Gram positif, en effet seuls les Staphylocoques sont sensibles. La Kanamycine agit aussi sur *Mycobacterium tuberculosis*. Les anaérobies sont naturellement résistants à la kanamycine, de même que *Pseudomonas aeruginosa*.

2.5.5. Les quinolones

2.5.5.1. Structure chimique



Structure commune aux quinolones

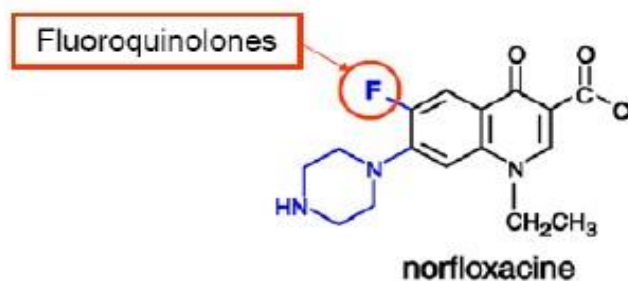


Figure 4: Structure chimique des quinolones

Les quinolones possèdent en commun un cycle A de type pyridinone 4 associé à un cycle aromatique B.

La nature du cycle B (pyridine, pyrimidine ou benzène) permet de distinguer trois sous-familles de quinolones :

- les naphthyridines : acide nalidixique, énoxacine
- les pyrimidino-pyridines : acide piromidique, acide pipémidique
- les quinoléines : acide oxolinique, fluméquine, rosoxacine, norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine.

2.5.5.2. Mécanisme d'action

L'action antibiotique de ces produits est due à une inhibition de la réplication de l'ADN bactérien par blocage de l'ADN gyrase. Des concentrations élevées de quinolones inhibent par ailleurs la synthèse des acides ribonucléiques.

2.5.5.3. Mécanisme de résistance

La résistance acquise des bactéries aux quinolones est due dans la grande majorité des cas à une modification de l'ADN gyrase.

Plus rarement, elle résulte d'une diminution de la perméabilité de la membrane externe et dans cette éventualité, la pénétration d'antibiotiques appartenant à d'autres familles est également perturbée.

Ces deux mécanismes de résistance sont la conséquence de mutations de gènes chromosomiques.

Les anciennes quinolones : acide nalidixique, acide piromidique, cinoxacine, acide oxolinique, acide pipémidique, fluméquine ;

Les nouvelles quinolones : péfloxacin, énoxacin, ofloxacin, ciprofloxacine, loméfloxacin, grépafloracin, sparfloxacine, rosoxacin, trovafloxacine, lévofloxacine, etc.

2.5.5.4. Ciprofloxacine :

Spectre d'activité Elle est active sur les *Enterobacteriaceae*, les *Haemophilus*, les *Pseudomonas*, les *Acinetobacter*, les cocci à Gram négatif (*Neisseria*), les staphylocoques et les mycobactéries.

2.5.6 Le Chloramphénicol

Spectre d'activité

Son spectre large, comprend théoriquement la plupart des espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que les *Rickettsia* et les *Chlamydiales*.

2.5.6.1. Mécanisme d'action

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique, inhibiteur de la synthèse des protéines bactériennes (mais il peut avoir, à forte concentration sur certains germes comme le pneumocoque, les *Haemophilus* ou les *Neisseria*, une action bactéricide).

2.5.7. Les tétracyclines

2.5.7.1. Structure

Les tétracyclines doivent leur nom à leur structure tétracyclique commune (noyau naphtacène-carboxamide), sur laquelle viennent se greffer des substituants au niveau des positions indiquées par un astérisque.

Les différents produits sont la tétracycline, l'oxytétracycline, la chlortétracycline, la diméthylchlortétracycline, la rolitétracycline, la métacycline, la doxycycline, la minocycline, la tigécycline.

2.5.7.2. Mode d'action

Elles inhibent la synthèse protéique au niveau des ribosomes, par liaison avec les protéines de la sous-unité 30 S, mais peut être aussi en moindre proportion sur la sous-unité 50.

Doxycycline :

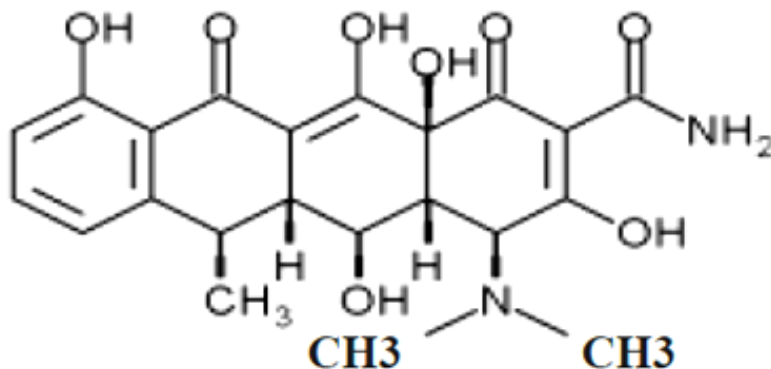


Figure 5: Structure chimique de la doxycycline

Spectre d'activité

Elles sont actives, théoriquement, sur de très nombreuses espèces à Gram positif ou à Gram négatif, sur les *Rickettsia*, les *Chlamydia*, les Mycoplasmes.

2.5.8. Les polymyxines

2.5.8.1. Définition

Les polymyxines sont des antibiotiques polypeptidiques élaborés par des bactéries du genre *Bacillus*, largement répandus dans la nature.

Deux d'entre elles, la polymyxine B et la polymyxine E ou colistine sont utilisées en clinique humaine mais la seule disponible par voie générale est la polymyxine E.

2.5.8.2. Mécanisme d'action

L'activité bactéricide des polymyxines est le résultat de leur structure polypeptidique, riche en radicaux hydrophiles et hydrophobes.

Elles agissent comme des détergents cationiques au niveau de la membrane cytoplasmique, que les bactéries soient en phase stationnaire ou non.

2.5.8.3. Mécanisme de résistance

La résistance aux polymyxines peut être naturelle ou acquise.

Les bactéries à Gram positif et quelques genres d'entérobactéries (*Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella*) sont naturellement résistants.

La résistance acquise est une éventualité exceptionnelle quelle que soit l'espèce bactérienne envisagée aussi bien in vivo qu'in vitro. La résistance naturelle ou acquise serait due à un

défaut de perméabilité de la membrane externe de la paroi des bactéries aux polymyxines empêchant l'antibiotique d'atteindre son site d'action, la membrane cytoplasmique.

Cette altération de la perméabilité au moins chez *Pseudomonas aeruginosa*, est liée à une diminution des lipopolysaccharides, des protéines D2F, H1 et H2, de la teneur en cations divalents (Ca^{++} , Mg^{++}) et à des altérations des lipides de la membrane externe.

2.5.8.4. Structure

Les polymyxines sont des polypeptides comprenant dix acides aminés caractérisés par une structure cyclique.

Ces molécules basiques contiennent de la thréonine et de l'acide diaminobutyrique. Elles se singularisent par la présence exceptionnelle pour des composés organiques naturels, d'acides aminés de la série D : D-phénylalanine, D-leucine et d'un acide gras à chaîne ramifiée : l'acide 6 méthyloctanoyl.

Les polymyxines A et E possèdent de la leucine, la polymyxine B de la leucine et de la phénylalanine, la polymyxine C de la phénylalanine et la polymyxine D de la leucine et de la serine.

2.5.8.5. Colistine

Spectre d'activité :

Antibiotique bactéricide à spectre étroit, elle agit sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* et les entérobactéries (sauf *Proteus*, *Serratia*, *Providencia*, *Edwardsiella*).

2.5.9. Les Sulfamides

2.5.9.1. Structure chimique

Les sulfamides ont été les premiers agents anti-microbiens utilisés en thérapeutique anti-infectieuse. Leur structure est relativement simple. Différentes substitutions sur le radical aminosulfonyl (SO_2NH_2) ont permis d'obtenir des produits ayant une pharmacocinétique différente :

- certains sont absorbés par voie digestive et éliminés principalement dans les urines (sulfaméthoxazole, sulfaméthizol, sulfamoxole)
- d'autres ne sont pas absorbés par la muqueuse intestinale (sulfaguanidine, succinylsulfathiazol, salazosulfapyridine).

2.5.9.2. Spectre d'activité

Les sulfamides avaient, au début de leur utilisation thérapeutique, un large spectre d'activité antimicrobienne, s'exerçant aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur celles à Gram négatif. Actuellement, un pourcentage élevé de souches appartenant à de nombreuses espèces bactériennes résistent à l'action des sulfamides.

2.5.9.3. Mécanisme d'action

Le mode d'action des sulfamides consiste en un blocage de la synthèse cellulaire de l'acide tétrahydrofolique, molécule qui sert de coenzyme dans de nombreuses réactions du métabolisme de plusieurs acides aminés (sérine, méthionine) et de celui des acides nucléiques (purines et pyrimidines). La plupart des micro-organismes sont en effet incapables d'incorporer l'acide folique exogène et la synthèse des folates s'effectue dans la bactérie à partir d'un dérivé de la dihydroptéridine. Par suite de leur analogie structurale avec l'acide para-amino-benzoïque, les sulfamides inhibent par compétition, la dihydroptéroate synthétase, enzyme qui assure la formation d'acide dihydroptéroïque par condensation d'une molécule d'acide para-amino-benzoïque et de dihydroptéridine.

2.5.9.4. Mécanisme de résistance

La résistance acquise de ces micro-organismes à ces antibiotiques est la conséquence de mutations chromosomiques entraînant soit une hyperproduction d'acide para-amino-benzoïque, soit la synthèse d'une dihydroptéroate synthétase ayant une faible affinité pour les sulfamides ou produite en quantité anormalement élevée. Des plasmides peuvent également conférer aux bactéries qui les hébergent la capacité de produire une dihydroptéroate synthétase supplémentaire insensible aux sulfamides.

2.5.1.1 Triméthoprim

Le triméthoprim est une 2,4-diaminopyrimidine.

Spectre d'activité

Le triméthoprim a un spectre d'activité antibactérienne limité aux cocci à Gram positif (streptocoques, pneumocoques, staphylocoques) et à certains bacilles à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*).

2.5.1.1.1. Mécanisme d'action

Comme les sulfamides, le triméthoprim exerce un effet habituellement bactériostatique, en inhibant la formation d'acide tétrahydrofolique. Le triméthoprim bloque en raison de son analogie stérique avec le noyau ptéridine de l'acide dihydrofolique, la dihydrofolate réductase, enzyme qui réduit l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique.

2.5.1.1.2. Mécanisme de résistance

La résistance acquise des bactéries au triméthoprim peut être le résultat de mutations chromosomiques entraînant une imperméabilité bactérienne (par diminution quantitative d'une ou plusieurs porines de la membrane externe), une auxotrophie en thymine ou thymidine, une production augmentée de l'enzyme cible ou la synthèse d'une dihydrofolate réductase à faible affinité pour le triméthoprim. Enfin, certaines bactéries peuvent héberger un plasmide codant

pour une dihydrofolate réductase non inhibée par le triméthoprim. *Pseudomonas aeruginosa* a une résistance naturelle au triméthoprim.

MATERIEL ET METHODES

III. Matériel et méthodes

3.1. Lieu de travail

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biologie médicale et d'hygiène hospitalière du Centre Hospitalier Universitaire du Point G.

3.2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude rétrospective descriptive, menée du 1^{er} janvier 2004 au 31 décembre 2009.

3.3. Echantillonnage

3.3.1. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude les résultats de l'antibiogramme de toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolée de 2004 à 2009 au laboratoire de biologie médicale et d'hygiène hospitalière du C.H.U du Point G quelle que soit la provenance.

3.3.2 Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus dans l'étude les résultats de l'antibiogramme des doublons et les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées avant 2004 et après 2009.

3.3.3. Taille de l'échantillon

Nous avons recueilli systématiquement toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées pendant notre période d'étude et ayant fait l'objet d'un antibiogramme.

3.4. Identification

Pour l'identification de nos souches, nous avons fait la coloration de Gram, la recherche de la cytochrome-oxydase et de la catalase, la mise en évidence des pigments, l'antibiotypie et l'étude des caractères biochimiques.

3.4.1. Coloration de Gram

Les réactifs et matériels utilisés sont : le violet de gentiane, la solution iodo-iodurée (lugol), de l'alcool à 90°, la solution de safranine, l'eau du robinet, les lames porte-objet, les pipettes Pasteur stériles, le microscope optique et l'huile de cèdre.

3. 4.1.1. Principe

La coloration de Gram est une technique qui permet de classer les bactéries selon la structure de leur paroi en bactéries à Gram positif et à Gram négatif. En effet lorsque les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane et ensuite soumises à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout le cytoplasme des bactéries. Cependant lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seule la paroi des bactéries à Gram négatif, du fait de sa structure particulière (glucido-lipido-protéique) se laisse traversée par l'alcool et

entraîne ainsi la décoloration de celles-ci qui seront ultérieurement colorées par la safranine en rouge. Ces dernières seront appelées bactéries à Gram négatif.

3.4.1.2. Technique

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie bien isolée pour faire un étalement mince sur une lame porte-objet.

Le frottis est fixé à la chaleur puis à l'alcool. Puis il est entièrement recouvert de violet de gentiane pendant 1 min. On rince ensuite à l'eau de robinet.

Le frottis est ensuite recouvert de lugol pendant 1 min, puis on décolore à l'alcool (la décoloration est arrêtée au moment où l'alcool n'entraîne plus de colorant)

On lave rapidement à l'eau en vue d'arrêter l'action de l'alcool, le frottis est enfin recouvert de safranine pendant 20 s, puis lavé à l'eau et séché.

Ensuite le frottis est examiné au microscope optique à l'objectif 100 et à l'immersion à l'huile de cèdre.

Résultat : *Pseudomonas aeruginosa* est un fin bacille à Gram négatif.

3.4.2. La recherche de l'oxydase

Nous avons utilisé des disques d'oxydase type Bio-rad (France).

Mode opératoire

Avec la pipette Pasteur, une colonie isolée est placée dans la zone réactionnelle.

Après environ 20 à 60 s, on compare avec l'échelle colorée.

La présence du cytochrome oxydase se manifeste dans la zone réactionnelle par une coloration bleue ou bleu-violette.

Résultat : *Pseudomonas aeruginosa* est oxydase positif.

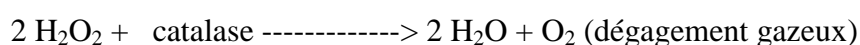
3.4.3. Recherche de la catalase

Nous avons utilisé le réactif ID color catalase de bioMérieux (flacon compte-goutte contenant une solution d'eau oxygénée à 10 volumes, un agent épaississant et du bleu d'Evans).

3.4.3.1. Principe

La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène.

Synthétisée par la plupart de bactéries aérobies, elle élimine le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme aérobie. Le test de la catalase sert à détecter la présence de cette enzyme dans une souche bactérienne donnée.



La mise en évidence de la catalase est réalisée en présence d'eau oxygénée, par obtention d'un dégagement important d'oxygène naissant.

3.4.3.2. Mode opératoire

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie isolée que l'on disperse dans une goutte d'eau oxygénée précédemment déposée sur une lame porte - objet.

3.4.3.3. Lecture

La présence de la catalase se traduit par le dégagement, en moins de 5 s, de bulles d'oxygène qui forment une mousse persistante.

Résultat : *Pseudomonas aeruginosa* est catalase positif.

3.4.4. Mise en évidence des pigments

Nous avons utilisé les milieux de King A (milieu Tech. Agar pH 7,2) et King B (milieu Flo. Agar pH 7,2), fabriqués par la société bioMérieux, pour la production de la pyocyanine et de la pyoverdine respectivement.

Ces milieux sont fondus et coulés en pente dans des tubes en verre et déposés à l'air ambiant jusqu'à refroidissement.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie isolée d'une culture de 24 h. Puis celle - ci est mise en suspension dans quelques millilitres d'eau physiologique. Ensuite, on ensemence les deux milieux en déposant dans chaque tube une goutte de cette suspension sur la pente et au moyen de la même pipette, on fait des stries sur toute la surface de la gélose.

Ces tubes sont placés dans l'étuve à 37° pendant 24 h à l'issue desquelles on fait la lecture.

La production de la pyocyanine est maximale sur le milieu King A et celle de la pyoverdine sur le milieu King B.

3.5. Étude de la sensibilité

Pour déterminer la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques, nous avons eu recours à la méthode de diffusion en gélose de Mueller-Hinton selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [34].

Nous avons utilisé des disques imprégnés d'une certaine charge connue d'antibiotiques fabriqués par le laboratoire Biorad.

Cette méthode est basée sur le principe de l'existence de correspondance entre les valeurs critiques des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en mg/l et des mesures des diamètres d'inhibition au moyen de courbes de correspondance.

❖ Techniques :

• Milieu de culture

C'est la gélose de Mueller-Hinton (MH). L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm, quelles que soient les dimensions et la forme de la boîte de Pétri utilisée.

- **Réalisation de l'inoculum bactérien**

Il est impératif de travailler sur une souche pure. L'identification et l'antibiogramme sont réalisés à partir d'une même suspension originelle. La suspension bactérienne est obtenue en mettant une colonie bien isolée dans 10 ml d'eau distillée stérile suivie d'une agitation.

- **Ensemencement par inondation**

Quelques ml de l'inoculum (2 à 6 ml environ selon les dimensions de la boîte de Pétri) sont déversés de façon à recouvrir presque entièrement la surface gélosée.

Des mouvements de rotation, dans les deux axes, imprimés par la main accélèrent le recouvrement.

Le surplus d'inoculum est versé et la boîte égouttée est mise à sécher pendant 15 min à l'étuve.

- **Application des disques**

Les disques d'antibiotiques en cartouches sont disponibles. Après 15 min de séchage, les disques choisis sont posés soit à la pince flambée, soit à l'aide d'un distributeur automatique périodiquement désinfecté. Les disques sont appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. L'ensemble est porté à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

Après incubation on procède à la lecture des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'un double décimètre. Le diamètre des zones d'inhibition est interprété en sensible, intermédiaire ou résistant conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

- **Les antibiotiques testés ont été :**

- Une aminopénicilline : l'amoxicilline (25 µg)
- Une carboxypénicilline : la ticarcilline (75 µg)
- Une uréidopénicilline : la pipéracilline (75 µg)
- Une céphalosporine de première génération : la céfalotine (30 µg)
- Une céphalosporine de deuxième génération : la céfoxitine (30 µg)
- L'association amoxicilline + acide clavulanique (20 µg + 10 µg)
- Deux céphalosporines de troisième génération : le céfotaxime (30 µg) et la ceftazidime (30 µg)
- un carbapénème : l'imipénème (10 µg)
- Trois aminosides : la gentamicine (15 µg), l'amikacine (30 µg) et la nétilmicine (30 µg)
- Une quinolone de première génération : l'acide nalidixique (30 µg)
- Une fluoroquinolone : la ciprofloxacine (5 µg)

- Un phénicolé : le chloramphénicol (30 µg)
- Une tétracycline : la tétracycline (30 UI)
- Une polymyxine : la colistine (50 µg)
- Les sulfamides (200 µg)
- Le triméthoprime (5 µg)

3. 5. 1. Technique de l'antibiogramme :

- Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu de Mueller-Hinton coulé dans une boîte de Pétri de façon uniforme et jusqu' à une épaisseur de 4 mm.

- Réalisation de l'inoculum bactérien

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie bien isolée d'une culture de 24h. Puis celle - ci est mise en suspension dans 5 ml de solution saline isotonique. Ensuite, on fait une nouvelle dilution en mettant 5 gouttes de la précédente suspension dans 10 ml d'eau distillée.

- Ensemencement par inondation

L'inoculum est versé de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée.

En inclinant la boîte de Pétri, on jette une première fois l'excès de l'inoculum.

À l'aide d'une pipette Pasteur, on aspire pour éliminer tout le reste de l'inoculum.

Les boîtes ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 mn à 37 °C.

- Dépôt de disques

Au bout de 15 mn de séchage, les disques choisis sont posés soit à la pince fine flambée, soit à l'aide d'un distributeur automatique.

Deux précautions importantes sont à respecter :

- Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement, en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.
- Une distance de 15 mm doit séparer un disque périphérique au bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au moins de 30 mm centre en centre de sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

- Prédifusion et incubation

Il est important d'observer une prédifusion des antibiotiques de 30 mn à température ambiante avant de porter les boîtes à l'étuve à 37 °C pendant 18 h, couvercle en bas (position renversée).

- Lecture et interprétation

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

L'interprétation des résultats a été faite conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiotique de la Société Française de Microbiologie [34].

3.5.2 Phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sensibles à la ticarcilline, à la ceftazidime et à l'imipénème ont été considérées comme productrices de céphalosporinase inducible.

Les souches résistantes à la ticarcilline mais sensibles aux autres β -lactamines ont été considérées comme productrices de pénicillinases et de céphalosporinase inducible.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ticarcilline, à la ceftazidime, mais sensibles à l'imipénème ont été considérées comme productrices de céphalosporinase dérégulée ou hyperproduite.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ticarcilline, à la ceftazime et à l'imipénème ont été considérées vraisemblablement comme productrices de carbapénémase.

La résistance à l'imipénème s'explique par deux mécanismes :

- la production d'une enzyme, l'imipénémase
- la résistance par imperméabilité et / ou hyperexpression du système d'efflux : « résistance intrinsèque ».

3.6. Technique de collecte

Elle a consisté à la lecture des fiches d'antibiogramme dont le questionnaire comportait outre la date de l'analyse, le numéro d'identification, le genre et l'espèce des souches isolées, la nature des prélèvements, le phénotype de résistance aux β -lactamines ainsi que les antibiotiques testés.

3.7. Analyse des données

L'analyse et l'interprétation de nos résultats ont été faites sur Microsoft et Excel SPSS version 20 du laboratoire de Biologie médicale et d'Hygiène hospitalière du Centre Hospitalier Universitaire du Point G.

Pour la comparaison de nos résultats, nous avons utilisé le test Khi carré (corrigé de Yates) avec un seuil de signification $P \leq 0,05$.

RESULTATS

IV. Résultats

4.1 Résultats globaux

De janvier 2004 à décembre 2009 nous avons étudié la sensibilité aux antibiotiques de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

4.1.1 Répartition des souches en fonction des prélèvements (tableau III)

Tableau III: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du prélèvement

Prélèvements	Effectifs	Fréquence
Urines	106	46 %
Pus	61	26,4 %
Prélèvement vaginal	38	16,5 %
Hémoculture	12	5,2 %
Liquide pleural	4	1,7 %
Cathéter	4	1,7 %
Liquide prostatique	1	0,4 %
Liquide articulaire	1	0,4 %
Liquide céphalo-rachidien	1	0,4%
Liquide bronchique	1	0,4%
Liquide de cavité abdominale	1	0,4%
Liquide gastrique	1	0,4%
Total	231	100 %

4.1.2 Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'origine

Sur 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, 173 (74,9 %) ont été d'origine hospitalière (tableau IV). Sur 173 souches hospitalières, 120 (69,4 %) provenaient des services de médecine et 53 (30,6 %) des services de chirurgie.

Tableau IV: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'origine

Origine	Effectifs	Fréquence
Néphrologie	56	24,2 %
Médecine interne	24	10,4 %
Chirurgie A	23	9,9 %
Hématologie-oncologie	16	6,9 %
Réanimation + urgences	12	5,2 %
Maladies infectieuses	12	5,2 %
Urologie	11	4,8 %
Chirurgie B	6	2,6 %
Neurologie	4	1,7 %
Rhumatologie	3	1,3 %
Pneumologie	3	1,3 %
Cardiologie	2	0,9 %
Gynécologie	1	0,4 %
Externes	58	25,1 %
Total	231	100 %

4.1.3 Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'année (tableau V)

Tableau V: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'année

Année	Effectifs	Fréquence
2004	50	21,6 %
2005	39	16,9 %
2006	30	13 %
2007	51	22,1 %
2008	38	16,4 %
2009	23	10 %
Total	231	100 %

4.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

4.2.1 Résultats d'ensemble

La colistine, la ceftazidime et l'amikacine ont été les molécules les plus actives (tableau VI).

Tableau VI: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité aux antibiotiques

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Total
Amoxicilline	0 (0 %)	0 (0 %)	231 (100 %)	231 (100 %)
Amoxicilline + acide clavulanique	0 (0 %)	12 (5,3 %)	215 (94,7 %)	230 (100 %)
Ticarcilline	107 (46,9 %)	36 (15,8 %)	85 (37,3 %)	228 (100 %)
Céfalotine	0 (0 %)	0 (0 %)	231 (100 %)	231 (100 %)
Céfotaxime	0 (0 %)	118 (51,3 %)	112 (48,7 %)	230 (100 %)
Ceftazidime	207 (89,6 %)	8 (3,5 %)	16 (6,9 %)	231 (100 %)
Céfoxitine	0 (0 %)	0 (0 %)	231 (100 %)	231 (100 %)
Gentamicine	130 (57,8 %)	14 (6,2 %)	81 (36 %)	225 (100 %)
Amikacine	181 (80,8 %)	11 (4,9 %)	32 (14,3 %)	224 (100 %)
Acide nalidixique	0 (0 %)	0 (0 %)	230 (100 %)	230 (100 %)
Ciprofloxacine	136 (59,1 %)	8 (3,5 %)	86 (37,4 %)	230 (100 %)
Chloramphénicol	0 (0 %)	26 (11,6 %)	198 (88,4 %)	224 (100 %)
Tétracycline	0 (0 %)	0 (0 %)	226 (100 %)	226 (100 %)
Sulfamides	115 (50,9 %)	7 (3,1 %)	104 (46 %)	226 (100 %)
Triméthoprim	0 (0 %)	0 (0 %)	231 (100 %)	231 (100 %)
Colistine	231 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	231 (100 %)

4.2.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa*

La colistine, la ceftazidime et l'amikacine ont été les molécules les plus actives sur nos souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa* (tableau VII).

Tableau VII: Sensibilité aux antibiotiques de 173 souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Total
Amoxicilline	0 (0 %)	1 (0,6 %)	172 (99,4 %)	173 (100 %)
Amoxicilline + acide clavulanique	0 (0 %)	9 (5,2 %)	164 (94,8 %)	173 (100 %)
Ticarcilline	76 (44 %)	28 (16 %)	69 (40 %)	173 (100 %)
Céfalotine	0 (0%)	0 (0%)	173 (100 %)	173 (100 %)
Céfotaxime	0 (0 %)	84 (48,6 %)	89 (51,4 %)	173 (100 %)
Ceftazidime	153 (88,4 %)	6 (3,5 %)	14 (8,1 %)	173 (100 %)
Céfoxitine	0 (0 %)	0 (0 %)	173 (100 %)	173 (100 %)
Gentamicine	97 (57,4 %)	7 (4,1 %)	65 (38,5 %)	169 (100 %)
Amikacine	133 (80,1 %)	8 (4,8 %)	25 (15,1 %)	166 (100 %)
Acide nalidixique	0 (0 %)	3 (1,7 %)	170 (98,3 %)	173 (100 %)
Ciprofloxacine	95 (55,2 %)	7 (4,1 %)	70 (40,7 %)	172 (100 %)
Chloramphénicol	0 (0 %)	20 (11,9 %)	148 (88,1 %)	168 (100 %)
Tétracycline	0 (0 %)	7 (4,2 %)	162 (95,8 %)	169 (100 %)
Sulfamides	83 (49,1 %)	5 (2,9 %)	81 (48 %)	169 (100 %)
Triméthoprim	0 (0 %)	0 (0 %)	173 (100 %)	173 (100 %)
Colistine	173 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	173 (100 %)

4.2.3 Sensibilité aux antibiotiques des souches externes de *Pseudomonas aeruginosa*

La colistine, la ceftazidime, l'amikacine et la ciprofloxacine ont été les molécules les plus actives sur nos souches externes de *Pseudomonas aeruginosa* (tableau VIII).

Tableau VIII: Sensibilité aux antibiotiques de 58 souches externes de *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Total
Amoxicilline	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)	58 (100 %)
Amoxicilline + acide clavulanique	0 (0 %)	3 (5 %)	55 (95 %)	58 (100 %)
Ticarcilline	31 (56,4 %)	8 (14,5 %)	16 (29,1 %)	55 (100 %)
Céfalotine	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)	58 (100 %)
Céfotaxime	0 (0 %)	34 (58,6 %)	24 (41,4 %)	58 (100 %)
Ceftazidime	54 (93 %)	2 (3,5 %)	2 (3,5 %)	58 (100 %)
Céfoxitine	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)	58 (100 %)
Gentamicine	33 (58,9 %)	7 (12,5 %)	16 (28,6 %)	56 (100 %)
Amikacine	48 (82,8 %)	3 (5,2 %)	7 (12 %)	58 (100 %)
Acide nalidixique	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)	58 (100 %)
Ciprofloxacine	41 (70,7 %)	1 (1,7 %)	16 (28,6 %)	58 (100 %)
Chloramphénicol	0 (0 %)	6 (10,3 %)	52 (89,7 %)	58 (100 %)
Tétracycline	0 (0 %)	3 (5,2 %)	55 (94,8 %)	58 (100 %)
Sulfamides	32 (56,1 %)	2 (3,5 %)	23 (40,4 %)	57 (100 %)
Triméthoprime	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)	58 (100 %)
Colistine	58 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	58 (100 %)

4.2.4 Sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de l'origine

4.2.4.1 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à la ticarcilline en fonction de l'origine

(tableau IX)

Tableau IX: Distribution de 228 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité à la ticarcilline et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	76 (44 %)	97 (56 %)	173 (100 %)
Souches externes	31 (56,4 %)	24 (43,6 %)	55 (100 %)
Total	107	121	228

$$\chi^2 = 2,59 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,107$$

4.2.4.2 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à la ceftazidime en fonction de l'origine

(tableau X)

Tableau X: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité à la ceftazidime et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	153 (88,4 %)	20 (11,6 %)	173 (100 %)
Souches externes	54 (93 %)	4 (7 %)	58 (100 %)
Total	207	24	231

$$\chi^2 = 1,015 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,314$$

4.2.4.3 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à la gentamicine en fonction de l'origine
(tableau XI)

Tableau XI : Distribution de 225 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité à la gentamicine et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	97 (57,4 %)	72 (42,6 %)	169 (100 %)
Souches externes	33 (58,9 %)	23 (41,1%)	56 (100 %)
Total	130	95	225

$\chi^2 = 0,0405$; d.d.l. = 1 ; P = 0,84

4.2.4.4 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à l'amikacine en fonction de l'origine
(tableau XII)

Tableau XII: : Distribution de 224 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité à l'amikacine et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	133 (80,1 %)	33 (19,9 %)	166 (100 %)
Souches externes	48 (82,8 %)	10 (17,2 %)	58 (100 %)
Total	181	43	224

$\chi^2 = 0,0004$; d.d.l. = 1 ; P = 0,984

4.2.4.5 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à la ciprofloxacine en fonction de l'origine

Les souches externes ont été plus sensibles à la ciprofloxacine que les souches hospitalières : la différence n'est pas significative (tableau XIII).

Tableau XIII: Distribution de 230 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité à la ciprofloxacine et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	95 (55,2 %)	77 (44,8 %)	172 (100 %)
Souches externes	41 (70,7 %)	17 (29,3 %)	58 (100 %)
Total	136	94	230

$$\chi^2 = 3,67 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,055$$

4.2.4.6 Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux sulfamides en fonction de l'origine (tableau XIV)

Tableau XIV: Distribution de 226 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction de la sensibilité aux sulfamides et de l'origine

	S	I + R	Total
Souches hospitalières	83 (49,1 %)	86 (50,9 %)	169 (100 %)
Souches externes	32 (56,1 %)	25 (43,9 %)	57 (100 %)
Total	115	111	226

$$\chi^2 = 0,842 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,358$$

4.3 Phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux β -lactamines sont rapportés au tableau XV.

Tableau XV: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype

Phénotypes	Effectif	Fréquence
Céphalosporinase inductible	107	46,3 %
Céphalosporinase inductible + pénicillinase	100	43,3 %
Céphalosporinase hyperproduite	23	10 %
Carbapénémase	1	0,4 %
Total	231	100 %

4.3.1 Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype et de l'origine

Les phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* sont très dispersés dans les services (tableau XVI).

Tableau XVI: Distribution des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype et de l'origine

Origine	CI	CI+ P	CH	CARB	Total
Néphrologie	23 (41 %)	27 (48 %)	6 (11 %)	0 (0 %)	56 (100 %)
Médecine interne	15 (62,5 %)	7 (29,2 %)	2 (8,3 %)	0 (0 %)	24 (100 %)
Chirurgie A	9 (39 %)	11 (48 %)	3 (13 %)	0 (0 %)	23 (100 %)
Hématologie-oncologie	5	9	2	0	16
Réanimation + urgences	5	6	1	0	12
Maladies infectieuses	7	4	1	0	12
Urologie	2	5	4	0	11
Chirurgie B	1	4	0	1	6
Neurologie	2	2	0	0	4
Rhumatologie	3	0	0	0	3
Pneumologie	2	0	1	0	3
Cardiologie	1	1	0	0	2
Gynécologie	1	0	0	0	1
Externes	31 (53,4 %)	24 (41,4 %)	3 (5,2 %)	0 (0 %)	58 (100 %)
Total	107	100	23	1	231

CI = céphalosporinase inductible ; CI + P = céphalosporinase inductible + pénicillinase ; CH = céphalosporinase hyperproduite ; CARB = carbapénémase

4.3.2 Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype et du prélèvement

La prévalence des phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* a été indépendante des prélèvements (tableau XVII).

Tableau XVII: Distribution des souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype et du prélèvement

Prélèvements	CI	CI + P	CH	CARB	Total
Urines	41 (39 %)	50 (47 %)	15 (14 %)	0 (0 %)	106 (100 %)
Pus	25 (41 %)	32 (52,4 %)	3 (5 %)	1 (1,6 %)	61
Prélèvement vaginal	28 (73,7 %)	8 (21,1 %)	2 (5,2 %)	0 (0 %)	38 (100 %)
Hémoculture	7	3	2	0	12
Liquide pleural	3	1	0	0	4
Cathéter	1	3	0	0	4
Liquide prostatique	0	1	0	0	1
Liquide articulaire	1	0	0	0	1
Autres	1	2	1	0	4
Total	107	100	23	1	231

CI = céphalosporinase inductible ; CI + P = céphalosporinase inductible + pénicillinase ; CH = céphalosporinase hyperproduite ; CARB = carbapénémase

4.3.3 Prévalence des phénotypes en fonction de l'origine (tableau XVIII)

Le phénotype céphalosporinase inductible n'a pas été plus fréquent chez les souches communautaires que chez les souches hospitalières de *P. aeruginosa* ($\chi^2 = 1,5825$; d.d.l. = 1 ; P = 0,208).

Le phénotype céphalosporinase hyperproduite n'a pas été plus fréquent chez les souches hospitalières que chez les souches communautaires de *P. aeruginosa* ($\chi^2 = 1,9773$; d.d.l. = 1 ; P = 0,1596).

Tableau XVIII: Distribution de 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du phénotype et de l'origine

Origine	CI	CI + P	CH	CARB	Total
Souches hospitalières	76 (43,9 %)	76 (43,9 %)	20 (11,6 %)	1 (0,6 %)	173 (100 %)
Souches communautaires	31 (53,4 %)	24 (41,4 %)	3 (5,2 %)	0 (0 %)	58 (100 %)
Total	107	100	23	1	231

CI = céphalosporinase inductible ; CI + P = céphalosporinase inductible + pénicillinase ; CH = céphalosporinase hyperproduite ; CARB = carbapénémase

4.3.4 Sensibilité comparée aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* hyperproductrices de céphalosporinase et des souches productrices de céphalosporinase inductible

Les sulfamides, la ciprofloxacine, la gentamicine et l'amikacine ont été plus actifs sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de céphalosporinase inductible que sur les souches hyperproductrices de céphalosporinase (tableau XIX).

Tableau XIX: Sensibilité comparée aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* hyperproductrices de céphalosporinase et des souches productrices de céphalosporinase inductible

Antibiotiques	CI		CH		P
	S	I+R	S	I+R	
Ticarcilline	107 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	23 (100 %)	< 10 ⁻⁶
Ceftazidime	107 (100 %)	0 (0 %)	0	23 (100 %)	< 10 ⁻⁶
Gentamicine	81 (79,4 %)	21 (20,6 %)	6 (27 %)	16 (73 %)	0,000 001248
Amikacine	96 (94,1 %)	6 (5,9 %)	14 (64 %)	8 (36 %)	0,000 0418
Ciprofoxacine	92 (87,6 %)	13 (12,4 %)	5 (23 %)	17 (77 %)	< 10 ⁻⁶
Sulfamides	83 (79,8 %)	21 (20,2 %)	5 (23 %)	17 (77 %)	< 10 ⁻⁶
Colistine	107 (100 %)	0 (0 %)	23 (100 %)	0 (0 %)	

CI = céphalosporinase inductible ; CH = céphalosporinase hyperproduite

4.4 Evolution des résistances

L'examen du tableau XX suggère les remarques suivantes :

- la résistance à la ticarcilline, la ceftazidime, la gentamicine, l'amikacine, la ciprofloxacine et aux sulfamides a évolué de façon irrégulière de 2004 à 2009 ;
- la sensibilité à la colistine a été constante.

Tableau XX: Evolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	I + R	I + R	I + R	I + R	I + R	I + R
Ticarcilline	44 %	49 %	63 %	50 %	71 %	44 %
Ceftazidime	6 %	0 %	13 %	16 %	21 %	4 %
Gentamicine	60 %	30 %	37 %	31 %	58 %	30 %
Amikacine	32 %	13 %	11 %	14 %	32 %	26 %
Ciprofoxacine	27 %	33 %	47 %	35 %	68 %	44 %
Sulfamides	44 %	51 %	60 %	46 %	57 %	35 %
Colistine	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

DISCUSSION

V. Discussion :

5.1. Méthodologie :

L'identification de nos souches de *Pseudomonas aeruginosa* est faite sur la base des caractères morphologiques et biochimiques [8, 40]. L'interprétation des résultats de l'antibiogramme est faite conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [34]. L'identification des phénotypes de résistance aux β -lactamines est faite selon la sensibilité de nos souches de *P. aeruginosa* à l'association amoxicilline + acide clavulanique, la ticarcilline, la ceftazidime et l'imipénème. Nous avons souhaité utiliser des disques de pipéracilline, cefsulodine, cefpirome, céfépime, ticarcilline + acide clavulanique, pipéracilline + tazobactam, méropénème et d'aztréonam pour mieux individualiser les phénotypes pénicillinases, oxacillinase, β -lactamases à spectre étendu, altération des porines et surexpression d'un système d'efflux [16, 21, 23, 35]. Cela n'a pas été possible pour des raisons financières des plateaux techniques.

5.2. Sites de prélèvement

Nos souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées dans différents prélèvements. Les souches ont été trouvées pour la plupart dans les urines, les pus, les prélèvements vaginaux et les hémocultures [tableau III]. Nos sites de prélèvement cadrent bien avec le pouvoir pathogène de cette bactérie qui détermine des infections diverses : infections urinaires, infections pulmonaires, abcès, infections ostéo-articulaires, bactériémies ou septicémies [40]. Souley Lié Moustapha a isolé ses souches de *P. aeruginosa* dans les mêmes prélèvements que nous au CHU du Point G en 2002 [43].

5.3. Origine des souches :

Sur 231 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées 173 (74,9 %) sont d'origine hospitalière et 58 (25,1 %) sont externes. Les souches hospitalières proviennent des services de néphrologie, de médecine interne, de chirurgie A et B, des maladies infectieuses, d'hématologie-oncologie médicale, d'urologie, de rhumatologie, de cardiologie, de réanimation, des urgences, de gynécologie, de neurologie [tableau IV].

Les services les plus touchés au CHU du Point G sont la néphrologie et la médecine interne.

Dans certaines études c'est le service de réanimation et des soins intensifs qui est le plus touché par *Pseudomonas aeruginosa* où il est cause d'infections nosocomiales [41, 42].

5.4. Sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* :

Nos souches ont été sensibles aux molécules suivantes : la colistine (100 %), la ceftazidime (89,6 %) et l'amikacine (80,8%) [tableau VI].

Les souches de Souley Lié Moustapha qui a travaillé dans le même service que nous ont été sensibles à la colistine (100 %), la ceftazidime (97,8 %) et l'amikacine (91,2 %) en 2002 [43]. Nyaledome a également fait le même constat que nous : ses souches de *Pseudomonas aeruginosa*, isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V en 2016, ont été sensibles à la colistine (100 %), la ceftazidime (82,6 %) et l'amikacine (80,8 %) [44].

Nos souches ont été plus sensibles à la ceftazidime et à l'amikacine que celles de Nyaledome [44].

5.4.1. Sensibilité aux β -lactamines

La ticarcilline a été active sur 44 % de nos souches hospitalières et 56 % de nos souches externes. La ceftazidime a été active sur 88,4 % des souches hospitalières et 93 % des souches externes [tableaux VII, VIII, IX et X].

Souley Lié Moustapha a eu les mêmes résultats que nous en ce qui concerne la sensibilité à la ticarcilline : 42% pour les souches hospitalières et 53,6 % pour les souches externes au CHU du Point G [43].

La ceftazidime est moins active sur nos souches de *Pseudomonas aeruginosa* que sur celles de Souley Lié Moustapha [39] : elle a été active sur toutes ses souches hospitalières et sur 96 % de ses souches externes au CHU du Point G en 2002 [43].

En Europe 74 % des souches de *P. aeruginosa* étaient sensibles à la ticarcilline. En France 18,6 % des souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes à la ceftazidime et 18,4 % à l'imipénème ou au méropénème [35].

5.4.2. Sensibilités aux aminosides

La sensibilité de nos souches à l'amikacine est de 80,1% pour les souches hospitalières et 82,8 % pour les souches externes. La gentamicine a été active sur 57,4 % de nos souches hospitalières et 58,9 % de nos souches externes [tableaux VII et VIII]. Nos souches ont été moins sensibles que celles de Souley Lié Moustapha à l'amikacine avec 91,5 % de sensibilité pour les souches hospitalières et 91 % pour les souches externes. La gentamicine a été plus active sur nos souches que sur celles de Souley Lié Moustapha avec 35,6 % pour ses souches hospitalières et 38,5 % pour ses souches externes au CHU du Point G en 2002 [43].

5.4.3. *Pseudomonas aeruginosa* et autres antibiotiques

La péfloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine sont actives sur *Pseudomonas aeruginosa* selon Véron [40]. Parmi nos souches, la ciprofloxacine a été active sur une souche hospitalière sur deux et sur 70,7 % de nos souches externes [tableaux VII, VIII et XIII]. La fréquence de la sensibilité à la ciprofloxacine, molécule la plus active, était autour 70 à 75 % selon Soussy [37].

La colistine a eu une activité constante sur nos souches [tableau VI].

Quant aux sulfamides, leurs activités ont été faibles sur nos souches [tableaux VII, VIII et IX].

5.5. Résistance aux antibiotiques

5.5.1. Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines :

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux β -lactamines est marquée par la production de céphalosporinase inductible (46,3 %), céphalosporinase inductible + pénicillinase (43,3 %), céphalosporinase hyperproduite (10 %) et de carbapénémase (0,4 %) [tableau XV].

La résistance aux β -lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* a été marquée par la production de céphalosporinase hyperproduite (3,6%), de l'imipénémase (9,3%) en 2016 à Rabat au Maroc [44].

Notre pourcentage de souches productrices de céphalosporinases hyperproduites (10 %) est plus élevé que celui Nyaledome (3, 6 %). Nos souches ont été moins résistantes à l'imipénème (0,4 %) que celles de Nyaledome (9,3 %) au Maroc en 2016 [44].

5.5.2 Résistance aux aminosides :

L'amikacine n'a pas été active sur 19,2 % de nos souches et la gentamicine sur 42,2 % [tableau VI].

Nyaledome a fait la même remarque nous en ce qui concerne la résistance de *P. aeruginosa* à l'amikacine : 19,2 % de ses souches sont résistantes à cette molécule. A l'inverse ses souches ont été moins résistantes à la gentamicine (29,5 %) que les nôtres [44].

Nos souches hospitalières n'ont pas été plus résistantes aux aminosides que nos souches externes [tableaux XI et XII].

5.6. Évolution de la résistance aux antibiotiques :

Pour la ticarcilline et la ceftazidime nous avons fait le même constat que Souley Lié Moustapha [43].

Souley Lié Moustapha a constaté une augmentation régulière de la résistance de 1999 à 2001 pour l'amikacine et la gentamicine [43]. La résistance de nos souches de *P. aeruginosa* aux antibiotiques a été irrégulière de 2004 à 2009. Seule la colistine a eu une activité constante sur nos souches [tableau XX].

CONCLUSION

VI. Conclusion :

L'étude de la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* a été réalisée sur une période allant de 2004 à 2009 au laboratoire de biologie médicale et d'hygiène hospitalière au CHU du Point G.

Les antibiotiques les plus actifs sont la colistine, la ceftazidime et l'amikacine.

L'activité de la gentamicine, de la ciprofloxacine et des sulfamides a été faible sur nos souches.

Les souches communautaires de *Pseudomonas aeruginosa* n'ont pas été plus sensibles aux antibiotiques que les souches hospitalières.

La fréquence de la résistance de nos souches a été élevée pour certaines molécules : ticarcilline, gentamicine, ciprofloxacine et sulfamides.

Les principaux phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été la céphalosporinase inductible associée ou non à une pénicillinase, la céphalosporinase hyperproduite. La production de carbapénémase a été très rare.

La résistance de nos souches aux antibiotiques a augmenté de façon irrégulière.

RECOMMANDATIONS

VII. Recommandations

Au terme de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Au Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique

- Lutter contre la vente illicite des médicaments.
- Mettre en place un comité national de lutte contre les infections nosocomiales.
- Rendre l'antibiogramme réalisable dans toute l'étendue du Mali.

A la direction du CHU du Point G

- Doter le laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière en équipements de dernière génération ;
- Approvisionner régulièrement le laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière en réactifs et consommables.
- Donner une autonomie de gestion au service du laboratoire.
- Mettre en place un comité local de lutte contre les infections nosocomiales.

Aux prescripteurs :

- Réaliser un antibiogramme avant toute prescription d'antibiotiques ;
- Prescrire de façon rationnelle les antibiotiques pour la diminution de l'émergence de nouvelles souches résistantes à plusieurs antibiotiques ;
- Adapter l'antibiothérapie à un antibiogramme.

REFERENCES

REFERENCES

- 1. Pier G and Rappaport R.** *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell G, Bennett J and Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia : Livingstone, Elsevier Churchill, 2005; p.2587-2615.
- 2. Cholley P.** Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'Est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux [thèse]. Université de Franche Comté, 2010.
- 3. Bertrand X, Blasco G, Belle E, Boillot A, Capellier G, Talon D. 2003.** *Pseudomonas aeruginosa* epidemiology in intensive care units: importance of cross-transmission. Ann Fr Anesth Reanim. 22 : 505-9.
- 4. Kouamé Elogne C, Guessenn N, Mbengue Gbonon V, Konan F, Anne JC, Kacou N'Douba A et al.** Sensibilité aux antibiotiques des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* de 2005 À 2009 à Abidjan, Côte d'Ivoire. *Revue Bio-Africa*. 2016 ; (15) : 33-8.
- 5. Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, Thornley PE, Pattemore PK, Grimwood K .** Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother . Jun 1996 ; 37 : 1155-64.
- 6. Bert F, Lambert-Zechovsky N.** Comparative distribution of resistance patterns and serotypes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care units and other wards. J Antimicrob Chemother. Apr 1996 ; 37(4) :809-13.
- 7. Dunia E, Mwandji A.** Analyse de la situation de la sécurité des patients et du contrôle infectieux dans les établissements de santé en période post-conflit en RD Congo. [Article publié dans International Conference on Prevention & Infection Control : Session spéciale Afrique RIPAQS-ICPIC]. c/2011. Disponible sur : <http://icpic2011.com/RIPAQS.pdf>. Google Scholar. consulté le 20/07/2011.
- 8. Berche P.** *Pseudomonas aeruginosa* et espèces proches. In : **BERCHE P, Gaillard JL et Simonet M, editors.** Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion, 1988 ; 230-231.
- 9. Euzéby JP.** Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, site web : <http://www.bacteriologie.net/generale/resistanceantibiotiques.html>
- 10. Cheryl A. Nickerson, Ph.D. Arizona State University,** http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/Microbe.html

11. Denis F, Hello Le S, Barraud O *et al.* Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies. In : Denis F, Ploy MC, Martin C, Cattoir V. Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3^{ème} édition. Paris : Masson. 2016 ; 335-7.
12. Nauciel C, Vildé JL. Bactériologie médicale : connaissance et pratique. 2^{ème} édition. Paris : Masson, 2007.
13. Mc Gowan JE Jr. Resistance in non fermenting Gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. Am J Infect Control. 2006 Jun ; 34 (5 Suppl 1) : S29-37.
14. Poole K. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect. 2004 Jan ; 10 :12-26.
15. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Dec ; 44 : 3322-7.
16. Elmeskini K. Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* [thèse]. Rabat : Université Mohammed V, 2011.
17. Talon D and Bertrand X. Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. In : Hauser AR and Rello J, editors. Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. 1st edition. New York : Springer US, 2003 ; 115–125.
18. Bagge N, Ciofu O, Hentzer M, Campbell JI, Givskov M, Hoiby N. Constitutive high expression of chromosomal beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Nov ; 46 : 3406-11.
19. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995 Oct; 8(4):557-84.
20. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* : novel developments and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Aug ; 47 : 2385-92.
21. Nordmann P, Guibert M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother. 1998 Aug ; 42 :128-31.
22. Pai H, Kim J, Kim J, Lee JH, Choe KW, Gotoh N. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Feb ; 45 : 480-4.
23. Nordmann P. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. Ann Fr Anesth Reanim. 2003 Jun ; 22(6) : 527-30.

24. **Poole K.** Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 feb ; 49 (2) : 479-87.
25. **Wright GD.** Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr Opin Microbiol.* 1999 Octob ; 2(5):499-503 .
26. **Evans DJ, Pier GB, Coyne MJ Jr, Goldberg JB.** The rfb locus from *Pseudomonas aeruginosa* strain PA103 promotes the expression of O antigen by both LPS-rough and LPS-smooth isolates from cystic fibrosis patients. *Mol Microbiol.* 1994 aug ; 13 :427-34.
27. **Khodursky AB, Cozzarelli NR.** The mechanism of inhibition of topoisomerase IV by quinolone antibacterials. *J Biol Chem.* 1998 oct ; 273 : 2768-77.
28. **Hygis N.** Hygiène hospitalière. Lyon : Presses universitaires de Lyon, 1998.
29. **Bedos JP.** Therapeutic strategies for infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2003 Juin ; 22(6) : 534-8.
30. **Bryskier A.** Antibiotiques : agents antibactériens et antifongiques. Paris : Ellipses, 1999.
31. **Pilet C, Bourdon JL, Toma B, Marchal N, Balbastre C et Person JM.** Bactériologie médicale et vétérinaire. Paris : Doin, 1987.
32. **Simonet M.** Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance bactérienne. In : **Berche P, Gaillard JL et Simonet M, editors.** Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion, 1988 ; 582-583.
33. **Dicko OA.** Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU du Point G en 2016 [mémoire]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2016.
34. **Jehl F, Lina G, Bonnet R, Bru JP, Caron F, Cattoir V et al.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie/European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommandations 2015 ; disponible sur www.sfm-microbiologie.org : consulté le 21 mai 2015.
35. **Nordmann P et Naas T.** β -lactamines et *Pseudomonas aeruginosa*. In : Courvalin P et Leclercq R, editors. AntibioGramme, 3^{ième} édition. Paris : Eska, 2012 ; 189-206.
36. **Lambert T.** Aminocyclitolés et bactéries à Gram négatif. In : Courvalin P et Leclercq R, editors. AntibioGramme, 3^{ième} édition. Paris : Eska, 2012 ; 261-79.
37. **Soussy CJ.** Quinolones et bactéries à Gram négatif. In : Courvalin P et Leclercq R, editors. AntibioGramme, 3^{ième} édition. Paris : Eska, 2012 ; 301-15.
38. **Wu W, Jin Y, Bai F and Jin S.** *Pseudomonas aeruginosa*. In : Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton Y and Schwarzman J, editors. Molecular medical microbiology, volume II. 2nd édition. New York : Elsevier, 2015 ; 753-67.

- 39. Vieu JF, Samb A, Diaha-Allou C, Dosso M, Lepers JP, Monzonmoreno C et al.** Sensibilité aux antibiotiques de 580 souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa* isolées en Côte d' Ivoire, Mauritanie, Niger, Sénégal et Îles Canaries. *Med Mal Infect* 1989 ; **19** : 319-21.
- 40. Véron M.** *Pseudomonadaceae*. In : Le Minor L et Véron M, editors. *Bactériologie médicale*. Paris : Flammarion, 1989 ; 55-98.
- 41. Mehdi Chinbo MM, Addebbous A, El Khoudri N, Chabaa L and Soraa N.** Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôpital pédiatrique marocain : implications thérapeutiques. *Internat J Innov Sci Res*. 2014 ; **11** : 283-90.
- 42. Ben Abdallah H, Ben Elhadj Khélifa SNA, Sahnoun O, Elargoubi A, Mastouri M.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir. *Med Mal Infect*. 2008 ; 38 : 554–6.
- 43. Abdou-Souley Lié Moustapha FK.** Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du Point G [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2002.
- 44. Nyaledome AI.** *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V [thèse]. Rabat : Université Mohammed V, 2016.

ANNEXES

Fiche signalétique

Nom : TRAORE

Prénom : Alima

Titre de thèse : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLEES DE 2004 A 2009 AU CHU DU POINT G

Année universitaire : 2018 – 2019

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Tel : 78 03 13 91

Email : alima78031391@gmail.com

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la F.M.P.O.S.

Secteur d'intérêt : Bactériologie, Pharmacologie

Résumé

Introduction : Le but de notre travail était d'étudier la sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* de 2004 à 2009 au laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière du centre hospitalier universitaire du Point G

Méthodes : L'isolement des souches de *P. aeruginosa* a été réalisé sur la gélose de Drigalski. L'identification des souches a été faite à l'aide des disques d'oxydase et sur la base des caractères biochimiques. L'étude de la sensibilité des souches de *P. aeruginosa* a été faite par la méthode des disques.

Résultats : Les souches de *P. aeruginosa* ont été isolées d'urines (46 %), de pus (26,4 %), de prélèvement vaginal (16,5 %), d'hémocultures (5,2 %). Les antibiotiques actifs sur nos souches de *P. aeruginosa* ont été la colistine (100 %), la ceftazidime (89,6 %), l'amikacine (80,8 %), la ciprofloxacine (59,1 %), la gentamicine (57,8 %), les sulfamides (50,9 %). Les souches externes de *P. aeruginosa* n'ont pas été plus sensibles à la ceftazidime (93 % versus 88,4 % ; P = 0,314), l'amikacine (82,8 % vs 80,1 % ; P = 0,984), la gentamicine (58,9 % vs 57,4 % ; P = 0,84), la ciprofloxacine (70,7 % vs 55,2 % ; P = 0,055), aux sulfamides (56,1 % vs 49,1 % ; P = 0,358) que les souches hospitalières. Les principaux phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été la céphalosporinase inductible (46,3 %), l'association céphalosporinase inductible + pénicillinase (43,3 %), la céphalosporinase hyperproduite (10 %). La résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* a évolué de façon irrégulière.

Conclusion : La colistine, la ceftazidime et l'amikacine ont été les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de *P. aeruginosa*.

Mots-clés : Pseudomonas aeruginosa ; antibiotiques ; CHU du Point G ; Bamako (Mali).

SERMENT DE GALIEN :

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade, sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.