

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي للبحوث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

Benmouffok Fatima Zohra

Bezzar Rachida

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En microbiologie fondamentale

Thème

**Etude de la résistance aux antibiotiques chez
Pseudomonas aeruginosa isolé au service de réanimation**

Les Membres du jury :

Examinatrice 1	Mme Bendimerad Nahida	Maître de conférences	Université Tlemcen
Promotrice	Mme Mesli Esma	Maître de conférence	Université Tlemcen
Examinatrice 2	Mme Ayad Amel	Maître de conférence	Université Tlemcen

Année universitaire 2020 / 2021

Remerciements

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

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice

Mme Mesli Esma

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

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

Mme Bendimerad Nahida, examinatrice 1

Mme Ayad Amel, examinatrice 2

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

Dédicaces



Je rends grâce à DIEU de m'avoir donné le courage et la volonté ainsi que la conscience pour venir à terme de mes études.

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement.

A ma belle mère et mon beau père

A mon cher mari « Mohammed Imad » et mon petit prince « Riad »

A mes frères « Abdelaziz, Mohammed, Zakaria »

A mes sœurs « Souaad, Nawel, Amina »

A ma belle sœur Mlle « Ferrouani Zahia »

A toute La famille « BENMOUFFOK », « FERROUANI » et « MESSAOUDI ».

A mes neveux et mes nièces

A ma copine « Benmeddah Manel »

A ma chère binôme Mme « BEZZAR Rachida »

A tous les enseignants de la promotion microbiologie fondamentale « M2 ».

Fatima...

Dédicaces



*Je rends grâce à DIEU de m'avoir donné le courage et la volonté ainsi que la conscience
pour venir à terme de mes études.*

Je dédie cet humble mémoire :

À Mes très chers parents,

Pour leur amour, leurs encouragements et leurs sacrifices

À Mon cher mari Djilali,

Pour son soutien et ses conseils

À Mes chers frères « Samad, Karim et Ryad »

À Mon neveu « Adam » et mes nièces « Maram, Assil et Maria »

À Ma tante « Fouzia »

À Mon amie « Ikram »

À Mon binôme « Fatima »,

Merci pour tes efforts je te souhaite une vie heureuse

Rachida...

Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste responsable essentiellement d'infections nosocomiales. Cette espèce manifeste vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand qui aboutit à des problèmes thérapeutiques souvent aigus. Les quatre articles étaient traités dans le but de mettre en évidence les mécanismes de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. Ces souches cumulent en permanence, plusieurs mécanismes de résistance qui peuvent inclure l'efflux actif, l'imperméabilité résultant de la perte de porines, des bêtalactamases codées par un plasmide. Le suivi de la résistance des bactéries aux antibiotiques est très important pour prévenir la dissémination des souches résistantes en milieu hospitalier.

Mots clé : Résistance ; Antibiotique ; *Pseudomonas aeruginosa*.

Summary

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogenic bacterium mainly responsible for nosocomial infections. This species manifests an increasing power of adaptation towards antibiotics, which results in often acute therapeutic problems. The four articles were treated with the aim of demonstrating the mechanisms of resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. These strains permanently accumulate several resistance mechanisms which can include active efflux, impermeability resulting from the loss of porins, beta-lactamases encoded by a plasmid. Monitoring the resistance of bacteria to antibiotics is very important to prevent the spread of resistant strains in hospitals.

Keywords: Resistance; Antibiotic; *Pseudomonas aeruginosa*.

ملخص

Pseudomonas aeruginosa هي بكتيريا انتهازية ممرضة مسؤولة بشكل رئيسي عن عدوى المستشفيات. يظهر هذا النوع قوة متزايدة للتكيف مع المضادات الحيوية ، مما يؤدي في كثير من الأحيان إلى مشاكل علاجية حادة. تمت معالجة المواد الأربعة بهدف توضيح آليات المقاومة في *Pseudomonas aeruginosa*. تتراكم هذه السلالات بشكل دائم العديد من آليات المقاومة التي يمكن أن تشمل التدفق النشط ، وعدم النفاذية الناتجة عن فقدان البورنس ، وبيتا لاكتامازات المشفرة بواسطة البلازميد. تعتبر مراقبة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية أمرًا مهمًا للغاية لمنع انتشار السلالات المقاومة في المستشفيات.

الكلمات الرئيسية: المقاومة. مضاد حيوي؛ الزائفة الزنجارية.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	{I}
Liste des tableaux	{III}
Liste des figures	{III}
Introduction	{1}

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Pseudomonas aeruginosa*

1 .Classification.	{2}
2. Habitat naturel	{3}
3 .Morphologie	{3}
4. Structure	{4}
5. Les facteurs de virulence de <i>P.aeruginosa</i>	{4}

Chapitre 2 : Les antibiotiques

1. Définition	{6}
2. Les principales familles d'antibiotiques.	{6}
2.1. Les bétalactamines	{6}
2.1.1. Classification	{6}
2.1.2 .Mode d'action de bétalactamine.....	{7}
2.1.3. Les béta-lactamases.....	{8}
2.2. Les aminosides	{8}
2.3 .Les quinolones....	{8}
2.4. La fosfomycine.....	{9}
2.5. Les macrolides, lincosamides et synergistines	{9}
2.6. Les sulfamides et le triméthoprime	{9}
2.7. Les rifamycines	{9}
2.8. Les nitro-imidazolés	{9}
2.9. Les polymyxines	{9}
2.10. L'isoniazide ...	{10}
2.11. L'éthambutol	{10}
2.12. Le pyrazinamide ...	{10}

3. Classification des antibiotiques en fonction des cibles bactériennes	{ 10 }
4 .Mode d'action des antibiotiques	{ 11 }

Chapitre 3 : Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

1. Mécanisme de résistance aux bêta-lactamines chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{ 12 }
1.1. Résistances naturelles.... ..	{ 12 }
1.2. Résistances acquises.... ..	{ 12 }
1.2.1. Résistance enzymatique	{ 13 }
1.2.2. Résistance non enzymatique	{ 14 }
2. Résistance aux aminosides	{ 16 }
2.1. Résistance par inactivation enzymatique	{ 16 }
2.2. Résistance par diminution de la perméabilité membranaire	{ 17 }
2.3. Résistance par modification de la cible ribosomale	{ 17 }
2.4. Résistance par efflux actif	{ 17 }
3. Résistance aux fluoroquinolones	{ 18 }
3.1. Résistance par modification de la cible	{ 18 }
3.2. Résistance par efflux actif	{ 18 }

Partie II : Traitement des articles

I. Matériel et méthodes	{ 19 }
1. Isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{ 20 }
2. Identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{ 21 }
3. Antibiogramme.....	{ 21 }
4. Détection phénotypique des mécanismes de résistance	{ 22 }
II. Résultats	{ 24 }
III. Discussion.....	{ 31 }
Conclusion	{ 34 }

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

A

- **AAC** : Acétyl-Amino-Transférase
- **ADN** : Acide Désoxy-ribo-Nucléique
- **Amp** : ampiciline
- **ANT** : Aminoside Adényl-Transférase
- **APH** : Aminoside Phospho-Transférase
- **ARN** : Acide Ribo-Nucléique
- **ARNr** : ARN ribosomal
- **ATB** : Antibiotique

B

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

C

- **CDT** : combined disc test
- **CLSI** : Clinical Laboratory Standards Institute
- **CTGB** : Centre de traumatologie et grands brûlés
- **CTX-M** : Cefotaximase, first isolated at Munich
- **C1G** : Céphalosporine de 1 ère génération
- **C2G** : Céphalosporine de 2 ème génération
- **C3G** : Céphalosporine de 3 ème génération
- **C4G** : Céphalosporine de 4 ème génération

E

- **EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétracyclique
- **ESBL** : les β -lactamases à spectre étendu

G

- **Gyr** : Gyrase

L

- **LBM** : au Laboratoire biomédical
- **LPS** : Lipopolysaccharide

M

- **MBL** : métallo-enzymes
- **MDR** : multidrug resistance
- **Mex** : Multiple Efflux
- **MH** : Mueller-Hinton
- **MHB** : Le bouillon Müller Hinton

O

- **Opr** : Outre membrane protéine
- **OXA** : Oxacillinase SHV: Sulfhydryl variable

P

- ***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*
- **PBP** : Pénicilline Binding Protéine
- **PER** : Pseudomonas extended resistant
- **PME** : Perméabilité de la membrane externe
- **PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines

Q

- **QRDR** : Quinolones Résistance Détermining Région

T

- **TEM** : Temoneira
- **TSA** : Trypticase Soya Agar

U

- **UV** : Ultra violet
- **µm** : micromètre

V

- **VEB** : Vietnamese extended spectrum β -lactamase

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{2}
Tableau 02 : Répartition des germes isolés chez les brûlés durant la période d'étude	{25}
Tableau 03 : Distribution des souches de <i>P aeruginosa</i> selon le produit biologique d'isolement.....	{26}
Tableau 04 : Caractéristiques sociodémographiques des patients	{26}
Tableau 05 : Fréquences d'identification de différentes espèces de <i>Pseudomonas</i>	{28}
Tableau 06 : Évolution de la résistance aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i> durant la période d'étude.....	{28}
Tableau 07 : Distribution des souches de <i>P aeruginosa</i> selon les profils de résistance aux antibiotiques au CHU de Yopougon de 2010 à 2016.....	{29}

Liste des figures

Figure 01 : observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{2}
Figure 02 : Facteur de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{5}
Figure 03 : les antibiotiques	{6}
Figure 04 : classification des antibiotiques	{7}
Figure 05 : Action des bêta-lactamines	{7}
Figure 06 : Les différentes cibles bactériennes des antibiotiques	{10}
Figure 07 : Principaux sites d'action des antibiotiques.....	{11}
Figure 08 : Représentation schématique de la pompe MexAB-OprM. CM et OM Indique les membranes cytoplasmique et extérieure respectivement	{15}

Figure 09 : Inactivation enzymatique	{16}
Figure 10 : Répartition des souches de Pseudomonas en fonction des différents types d'échantillons	{27}
Figure 11 : Détection phénotypique des mécanismes de résistance.....	{30}

Introduction

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif non fermentant. Il est responsable, pour une large part, d'infections nosocomiales, notamment des sites respiratoires et urinaires. Il est particulièrement redouté chez le grand brûlé et le patient atteint de mucoviscidose où il peut, chez ce dernier acquérir des phénotypes de multi résistance et de virulence lorsqu'il est sous sa forme mucoïde (**Olivier et al, 2000**), (**Hogardt et al, 2007**). Aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un risque majeur de santé publique, ainsi l'un des problèmes les plus importants des thérapeutiques anti-infectieuses et dans l'industrie pharmaceutique (**Gangoue, 2007; Sanders et al, 2017**). Les β -lactamines demeurent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans la pratique clinique, en raison de leur activité élevée, leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et à leur faible coût pour certaines molécules (**Charlier et al, 1998; Gangoue, 2007**). Et pour cela les bactéries ont développé différents mécanismes de résistance pour contrecarrer l'action des β -lactamines, entre autre la modification de la cible (Protéines liants Pénicillines); l'acquisition ou la surproduction des pompes efflux pour expulser l'antibiotique en dehors de la cellule; diminution de la perméabilité de la membrane externe pour une diffusion plus lente des β -lactamines et la synthèse des enzymes de β -lactamases qui sert à inactiver les β -lactamines par modification chimique (**Gangoue, 2007**). Ce phénomène de résistance est dû à l'utilisation anarchique des antibiotiques, les prescriptions inappropriées, doses inadaptées, intervalles ou durées d'administration non respectées, etc., et qui a eu de mauvaises conséquences (**Grare, 2009**).

Vu la situation sanitaire actuelle dans notre pays nous n'avons pas pu travailler au laboratoire LAMAABE au quel on appartient, ainsi nous avons réalisé une analyse de quatre articles portant sur l'isolement et l'identification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et enfin réaliser un antibiogramme pour mettre en évidence les mécanismes de résistance. Cette étude a été précédée d'une synthèse bibliographique sur les antibiotiques, leur mode d'action et la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à ces antibiotiques.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

Chapitre I :

Pseudomonas aeruginosa

Le bacille pyocyanique (du grec : pyon, pus ; et du latin : cyaneus, bleu foncé) est maintenant désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* (du latin : aes, airain, cuivre ; aerugo, rouille d'airain, vert de gris ; *aeruginosus*, couvert de rouille). *P. aeruginosa* est l'espèce du genre *Pseudomonas* la plus rencontrée en pathologie infectieuse. Elle a été découverte par Gessard en 1882 (Léon et al, 1990).



Figure 01 : observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa*

1. Classification

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* appartient à la famille de Pseudomonaceae qui sont des bactéries Gram négatif, à ciliature polaire (rarement immobiles), aérobies strictes, ayant un métabolisme exclusivement respiratoire et ne fermentent jamais le glucose. La classification du *Pseudomonas aeruginosa* est présentée dans le tableau 01 suivant : (Bourahla et Haddache, 2015)

Tableau 01 : Classification de *Pseudomonas aeruginosa*.

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

2. Habitat naturel

Pseudomonas aeruginosa est un germe ubiquitaire très répandu dans l'environnement. C'est un saprophyte du sol et des milieux humides ; il peut survivre dans l'eau distillée ou salée. Il peut vivre sur les végétaux qui sont la source de contamination humaine et animale. De nombreux légumes frais sont contaminés superficiellement avec des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique. Cela explique que la bactérie soit souvent retrouvée dans le tube digestif (4-12% des sujets sains) et sur les endroits humides du revêtement cutané (périnée, creux axillaire) des sujets sains. En milieu hospitalier *Pseudomonas aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation. (Patrick et al, 1989).

3. Morphologie

Pseudomonas aeruginosa a la forme de bâtonnets rigides, non sporulé, droits, avec des extrémités arrondies. Très mobile, se déplaçant en ligne droite, avec un léger frémissement, à condition que la tension partielle en oxygène du milieu soit suffisante. Après coloration de Gram, les bactéries se présentent comme des bacilles à Gram négatif, colorés uniformément ou avec un aspect bipolaire, ayant 0,5 à 1,0 µm de diamètre et 1 à 5 µm de long. Les bacilles sont en général isolés ou en petits amas ; des formes longues sont parfois visibles dans les vieilles cultures. *Pseudomonas aeruginosa* produit deux pigments : bleu (pyocyanine) et vert fluorescent (pyoverdine). (Khalilzadeh, 2009)

✓ Pyocyanine

La pyocyanine est un pigment bleu sécrété par la bactérie et impliqué dans de nombreux mécanismes de pathogénicité. Elle réprime la réponse immunitaire de la cellule hôte, induit l'apoptose des neutrophiles. Son importance dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* a été démontrée lors des infections sur modèle animal. Ses propriétés oxydo-réductrices lui permettent d'oxyder le glutathion, d'inactiver la catalase des cellules épithéliales bronchiques et ainsi de participer aux lésions liées au stress oxydatif. (Khalilzadeh, 2009)

✓ Pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore jouant également un rôle important dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*, notamment par régulation de l'expression d'autres facteurs de virulence comme l'exotoxine A. (Khalilzadeh, 2009)

4. Structure

La structure générale de *Pseudomonas aeruginosa* ressemble au modèle classique des bactéries à Gram négatif. La cellule est limitée par deux membranes phospholipidiques, membrane cytoplasmique et membrane externe, entre lesquelles s'intercalent l'espace périplasmique. La membrane cytoplasmique contient plusieurs enzymes en particulier celles qui assurent la respiration et la phosphorylation oxydative ainsi que les PBP ou protéines de liaison aux pénicillines. La membrane externe phospholipidique contient un énorme complexe macromoléculaire, le lipopolysaccharide (LPS) et de nombreuses protéines. Sortant de la membrane externe, on note le flagelle polaire et des pili. La bactérie possède également plusieurs types d'antigènes :

- L'antigène O : ou antigène somatique, qui permet de définir 20 sérotypes.
- L'antigène H : ou antigène flagellaire, qui est formé par la partie protéique externe des flagelles composés d'au moins 55 antigènes.
- Les autres antigènes sont les pili, les porines et l'exotoxine A. (**Bourahla, Haddache, 2015**)

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

Pseudomonas aeruginosa possède et utilise un vaste arsenal de facteurs de virulence (Figure 2). Ces derniers lui permettent de s'adapter à différents environnements et coloniser divers types d'hôtes. Ces différents facteurs de virulence sont employés par la bactérie à des niveaux différents au cours du processus infectieux. Deux classes de ces facteurs peuvent être distinguées. La première correspond aux facteurs sécrétés comme les toxines et les protéases. La deuxième classe est celle des facteurs associés à la membrane de la bactérie comme le flagelle et les pili et qui sont principalement impliqués dans l'adhérence et la motilité. (**Bourahla, Haddache, 2015**)

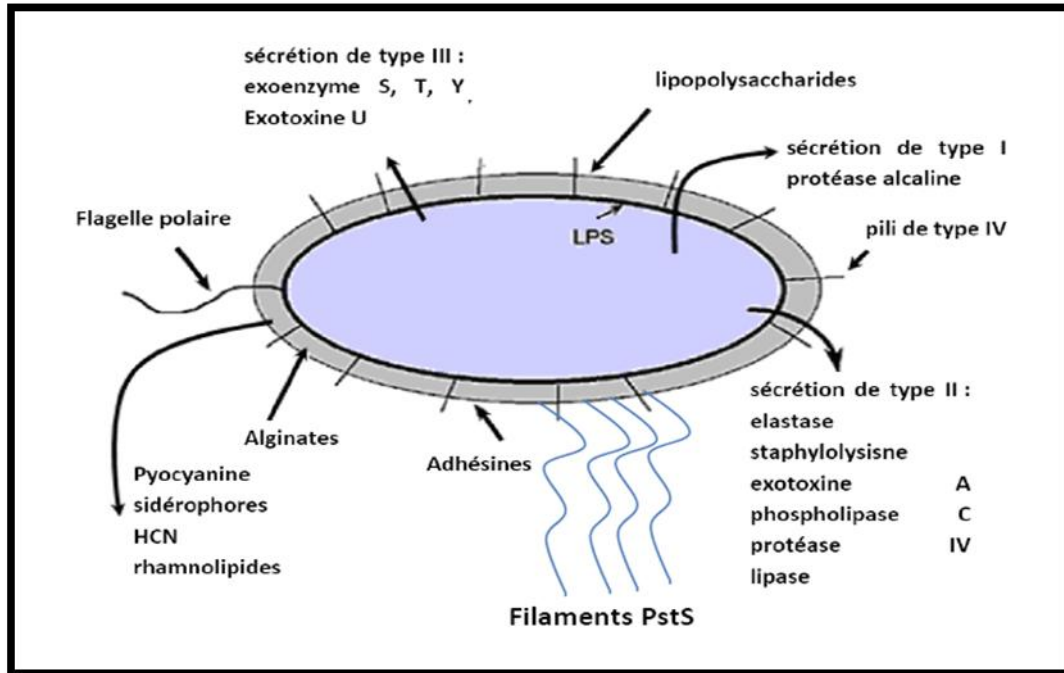


Figure 02 : Facteur de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

Chapitre II :

Les antibiotiques

1. Définition

Les antibiotiques (Figure 03) sont des substances chimiques élaborées par des organismes vivants ou produits par synthèse chimique qui possèdent une activité antibactérienne. Cette activité se manifeste de manière spécifique par l'inhibition ou la modification de certains processus vitaux des micro-organismes. En fonction de la molécule, de sa concentration et du temps de contact avec les bactéries, les antibiotiques peuvent les tuer (effet bactéricide) ou ralentir leur croissance (effet bactériostatique). **(Bounoua, 2018)**



Figure 03 : les antibiotiques.

2. Les principales familles d'antibiotiques

2.1. Les bêta-lactamines

Elles sont réparties en trois sous-familles et un groupe d'une de ces familles : les **pénicillines**, les **céphalosporines**, les **monobactames** et les **carbapénèmes**. Elles se fixent préférentiellement sur certaines des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) qui sont des enzymes de la phase terminale de la synthèse du peptidoglycane (transpeptidases, carboxypeptidases) catalysant les liaisons entre les chaînes peptidiques dans la paroi des bactéries. Les bêta-lactamines jouent le rôle d'un substrat formant une liaison stable avec certaines PLP et bloquent l'action de ces dernières. Ce sont des produits bactéricides temps. **(Singleton, 2005)**

2.1.1. Classification

Les bêta-lactamines sont classées dans quatre familles (Figure 04) : pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes. **(Bibbal, 2008)**

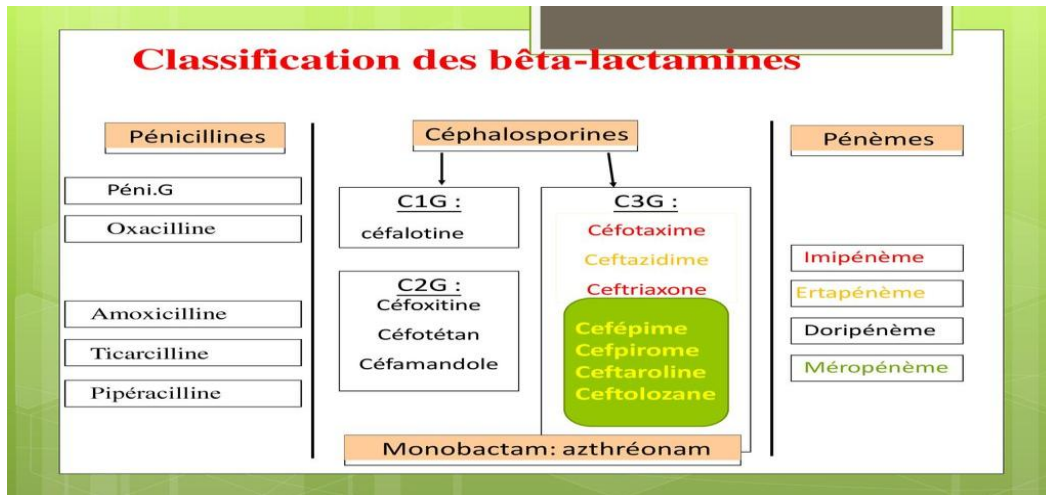


Figure 04 : classification des antibiotiques.

2.1.2. Mode d'action de bêtalactamine

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames; pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif .Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque. (Fatnassi; 2020)

Les bêtalactamines agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). (Figure 05)

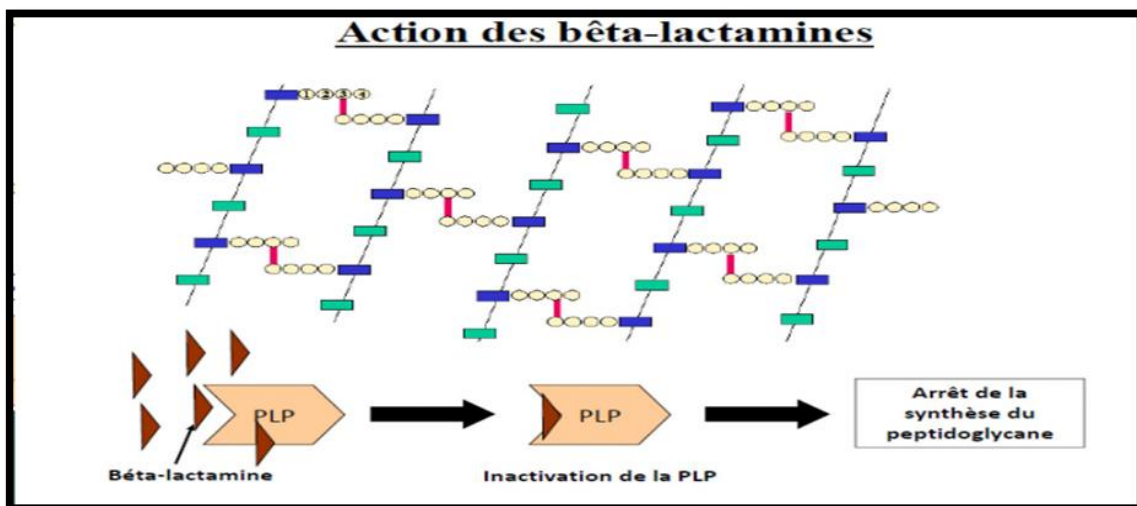


Figure 05 : Action des bêta-lactamines

2.1.3. Les bêta-lactamases

Les bêta-lactamases (β -lactamases) sont des enzymes (EC 3.5.2.6), capables d'hydrolyser la liaison amide du noyau β -lactame, cette réaction rend l'antibiotique inactif. C'est le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram-négatives. Il existe quatre classes de β -lactamases : classe A, classe B, classe C et classe D. Cette classification est basée sur la séquence en AA. Les classes A, C et D regroupent des β -lactamases à sérine active, tandis que la classe B comprend des métallo- β -lactamases. Des similarités de séquences laissent penser que les β -lactamases à sérine active et les PBPs partagent une origine commune. Des mutations ponctuelles des séquences de β -lactamases permettent de modifier leur spectre d'action. Ainsi, les β -lactamases à spectre étendu (ESBLs) sont des β -lactamases conférant non seulement une résistance contre toutes les pénicillines, mais également contre les céphalosporines de première, deuxième et troisième générations. Toutefois, certaines ESBLs sont inhibées par l'acide clavulanique. La plupart des ESBLs font partie de la classe A, mais on en retrouve également dans la classe D. Les carbapénémases, quant à elles, sont des β -lactamases à très large spectre d'action capables d'hydrolyser en plus (ou uniquement) les carbapénèmes. Elles sont présentes dans les classes A, B et D. A ce jour, plus de 4000 β -lactamases ont été répertoriées. (Lupo, 2018)

2.2. Les aminosides

Ils se fixent irréversiblement au niveau de la sous-unité 30S du ribosome ; ils sont des inhibiteurs de la traduction : ils provoquent des erreurs de lecture du message porté par l'ARN messager. Ils sont de puissants bactéricides concentration-dépendants. (Figarella et al, 2007)

2.3. Les quinolones

Elles sont réparties en deux groupes : **les quinolones** et **les fluoroquinolones** larges ciblées sur quelques espèces. Elles agissent sur des enzymes réglant la conformation de l'ADN, les topo-isomérases (essentiellement les topo-isomérases II ou ADN gyrases). Elles sont bactéricides. Elles atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes. (Figarella et al, 2007)

2.4. La fosfomycine

Elle inhibe une des phases cytoplasmiques de la synthèse de la paroi en bloquant une pyruvyl-transférase ; Elle est bactéricide. (**Figarella et al, 2007**)

2.5. Les macrolides, lincosamides et synergistines

Ces produits se fixent sur la sous-unité 50 S du ribosome Les macrolides et les **lincosamides** sont bactériostatiques ; les **synergistines** sont bactéricides. Ils atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes. (**Figarella et al, 2007**)

2.6. Les sulfamides et le triméthoprime

Ils agissent sur des enzymes de la voie de synthèse de l'acide folique et des folates, qui sont des cofacteurs de la synthèse des acides nucléiques ; les sulfamides agissent sur la dihydroptéroate-synthétase ; le triméthoprime agit sur la dihydrofolate-réductase. Ils sont bactéricides. (**Figarella et al, 2007**)

2.7. Les rifamycines

Ce sont des produits inhibant la synthèse des ARN messagers par inhibition de l'ARN polymérase ADN dépendante. Elles sont bactéricides et surtout utilisées pour traiter la tuberculose. Elles atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes. (**Figarella et al, 2007**)

2.8. Les nitro-imidazolés

Réduits en dérivés actifs en atmosphère strictement anaérobie, ils forment un complexe avec un brin d'ADN provoquant une coupure de ce dernier ; Ils sont bactéricides. (**Figarella et al, 2007**)

2.9. Les polymyxines

Elles se fixent sur les phospholipides membranaires ; les membranes ne peuvent plus se remanier, se déforment et deviennent perméables. Elles sont bactéricides mais diffusent mal dans les tissus. (**Figarella et al, 2007**)

2.10. L'isoniazide

Il inhibe la synthèse des acides mycoliques, constituants essentiels de la paroi des mycobactéries. Il est bactéricide sur les bacilles à multiplication active et sur les bacilles phagocytés. (Figarella et al, 2007)

2.11. L'éthambutol

Il inhibe la fixation à la paroi des acides mycoliques nouvellement constitués. Il est bactériostatique sur les bacilles à multiplication active et sur les bacilles phagocytés. (Figarella et al, 2007)

2.12. Le pyrazinamide

Il semble agir d'une façon proche de celle de l'isoniazide. Il est actif uniquement sur les bacilles phagocytés. (Figarella et al, 2007)

3. Classification des antibiotiques En fonction des cibles bactérienne

Pour pouvoir mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on a procédé à leur classification selon les cibles d'action. (Figure 06) (Perryet al ; 2002)

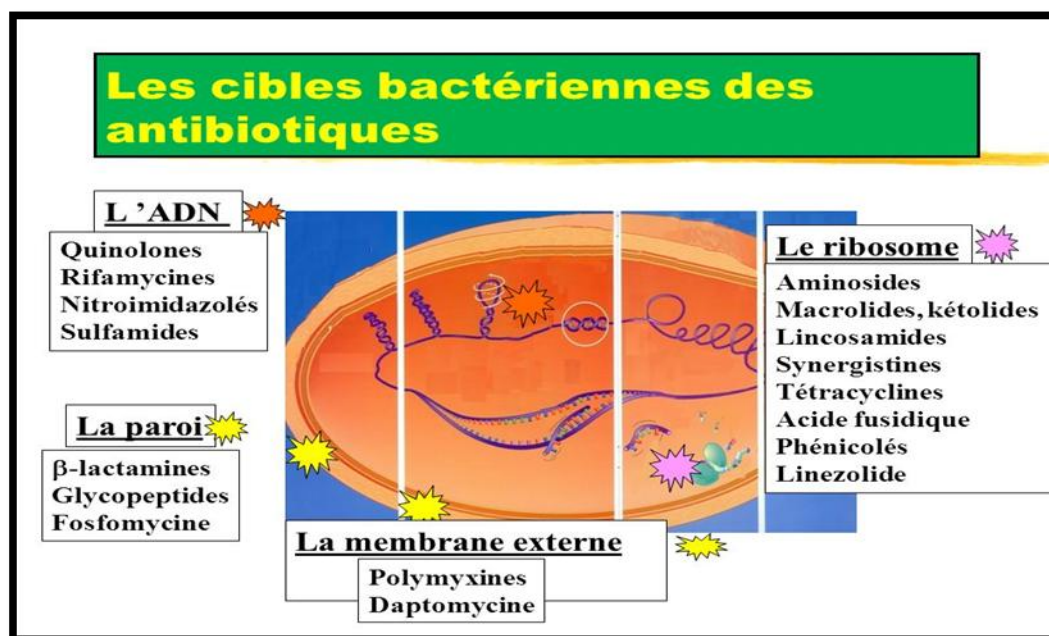


Figure 06 : Les différentes cibles bactériennes des antibiotiques

4. Mode d'action des antibiotiques

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

- ✓ Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne.
- ✓ Ne pas être inactivé.
- ✓ Être capable de se lier à sa cible.

- ❖ Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action (Figure 07) distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique. Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes. (Gaudy et Buxeraud, 2005)

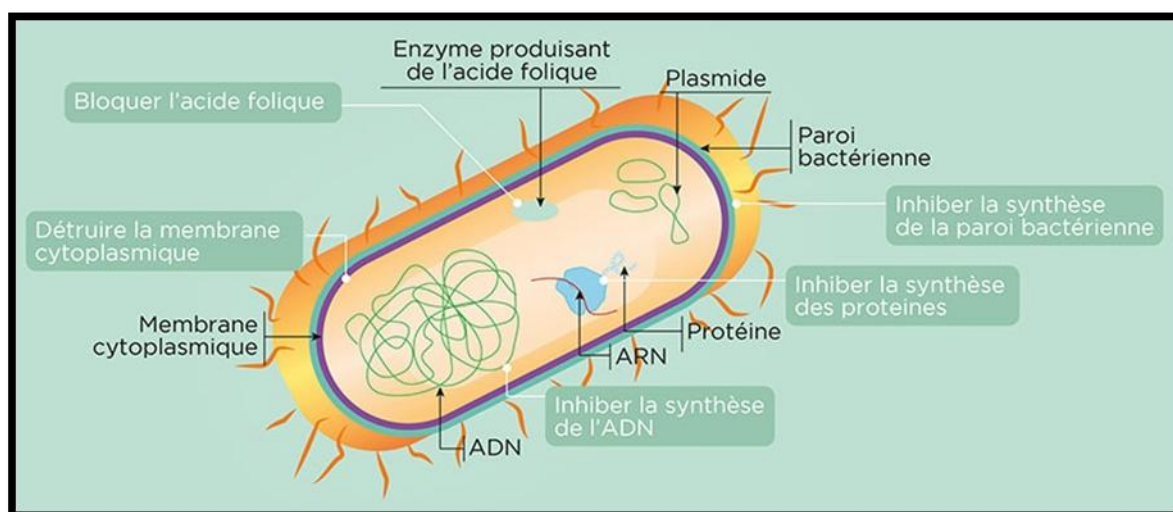


Figure 07 : Principaux sites d'action des antibiotiques.

Chapitre III :

**Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux
antibiotiques**

Pseudomonas aeruginosa présente un niveau élevé de résistance naturelle aux antibiotiques. Ainsi, les molécules habituellement actives sur cette bactérie sont de nombre restreint. Les résistances acquises pour ces antibiotiques sont cependant très fréquentes, résultant de l'accumulation de mécanismes de résistance liés à des mutations chromosomiques et à l'acquisition de gènes exogènes. (Bourahla, Haddache, 2015)

1. Mécanisme de résistance aux B-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*

Depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique durant la seconde guerre mondiale, un grand nombre de bêtalactamines a été mis sur le marché. Les bêtalactamines incluant les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes constituent la famille d'antibiotiques la plus fréquemment utilisée dans le traitement des infections à bactéries à Gram négatif, notamment *Pseudomonas aeruginosa*. Les bactéries se sont progressivement adaptées à ces antibiotiques par différents mécanismes de résistance. (Sefraoui, 2015)

1.1. Résistances naturelles

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un très grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate, et d'une mauvaise perméabilité membranaire. *Pseudomonas aeruginosa* est donc résistant aux pénicillines de groupe V, G, M et A, à la plupart des céphalosporines de troisième génération et aux quinolones de première génération. *Pseudomonas aeruginosa* est aussi généralement résistant à la kanamycine. A ces différents mécanismes se surajoute le système d'efflux actif MexAB-OprM produit constitutivement chez les bactéries sauvages, et qui joue un rôle fondamental dans la résistance naturelle à de nombreux agents toxiques ou antibiotiques dont les bêtalactamines et les aminosides. Il a été toujours considéré comme un organisme difficile à traiter en raison de sa résistance aux antibiotiques, *Pseudomonas aeruginosa* n'est sensible naturellement qu'à un nombre restreint d'antibiotiques. (Bourahla, Haddache, 2015)

1.2. Résistances acquises

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Dans ce cas, la résistance acquise est présente seulement dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance

résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger. (Léon et Michel, 1990)

1.2.1. Résistance enzymatique

Les premières bêta-lactamases décrites chez *Pseudomonas aeruginosa* avaient un spectre étroit, tandis que les plus récentes ont un spectre d'action étendu aux céphalosporines de troisième et quatrième génération, voire aux carbapénèmes. Selon leur séquence en acides aminés, ces enzymes ont été réparties en quatre classes (A, B, C et D ou classification de Ambler). Les enzymes de classe A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif, tandis que celles de classe B nécessitent le zinc comme cofacteur, d'où leur nom de métallo-enzymes. (Gougeon, 2017)

✓ Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C

Pseudomonas aeruginosa possède une céphalosporinase naturelle AmpC (classe C de la classification d'Ambler) qui intervient dans le phénotype de résistance naturelle, décrit dans la partie précédente. L'expression d'AmpC peut être induite par certaines bêta-lactamines, comme les carbapénèmes, la cefoxitine et par l'acide clavulanique. Cette AmpC est faiblement exprimée chez les bactéries sauvages. La production de l'AmpC est naturellement réprimée par une protéine AmpR. Des mutations chromosomiques dans le système de régulation de la production de cette enzyme peuvent entraîner une dérégulation totale ou partielle de sa synthèse. (Gougeon, 2017)

✓ Oxacillinase de classe D

Chez *Pseudomonas aeruginosa* des BLSE dérivées d'OXA-10 et OXA-2 ont été isolées (OXA-10, 11, 14, 15,16, 19) ainsi que la bêta-lactamase OXA-18. Ces enzymes sont localisées sur des plasmides (sauf OXA-18). Ils hydrolysent la plupart des bêta-lactamines y compris les céphalosporines, l'imipénème et le méropénème. L'aztréonam et la piperacilline sont moins touchés, mais leurs activités ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam. L'OXA-18 est la seule bêta-lactamase de classe D inhibée par l'acide clavulanique identifiée chez *P. aeruginosa*, le gène blaOXA-18 est localisé au niveau de chromosome. (Nordman et Guibert, 1990)

✓ Carbapénèmases de classe B

La résistance acquise aux carbapénèmes (imipénème), initialement rapportée comme liée à un déficit de la porine OprD2, peut être maintenant en relation avec la synthèse de β -lactamases de type carbapénémase (classe B). Ce sont des métallo-enzymes (MBL) qui sont dépendantes de la présence d'ions Zn^{++} , donc inhibables par des chélateurs d'ions tel l'EDTA. (Nordman et Guibert, 1990)

✓ Les bêtaclamases à spectre étendu ou élargi

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

Cinq types de BLSE de classe A (TEM, SHV, PER, VEB et GES) ont été détectés chez *Pseudomonas aeruginosa*. Il existe actuellement neuf types connus de BLSE GES, jusqu'à présent quatre de ces types de GES (GES-1, -2, -8 et -9) ont été trouvés chez *Pseudomonas aeruginosa*. Il nous faut bien distinguer les résistances acquises aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), soit par hyperproduction de céphalosporinase, soit par BLSE car les phénotypes de résistance sont différents. Ces enzymes sont habituellement détectées par une synergie entre une C3G (notamment la céftazidime) ou l'aztréonam et l'acide clavulanique (aspect en "bouchon de champagne" sur un antibiogramme). (Weldhagen et al, 2003)

1.2.2. Résistance non enzymatique

✓ Perte de la porine OprD2

Dans les bactéries à Gram négatif, les porines bactériennes sont une des voies principales d'entrée pour les antibiotiques usuels comme les β -lactamines et les fluoroquinolones. Cette

protéine canalaire de la membrane externe possède un site spécifique de liaison aux carbapénèmes, et permet la pénétration sélective de l'imipénème. Des modifications de la quantité absolue ou de l'état fonctionnel de ces porines ont pour conséquence une diminution de la diffusion des antibiotiques empruntant cette voie de pénétration. Ce mécanisme par diminution de perméabilité peut entraîner une résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la modification de la protéine de membrane externe OprD reste le mécanisme le plus fréquent de résistance à l'imipénème. (Li XZ et al, 2000)

✓ Surexpression de système d'efflux

Le système MexAB-OprM, produit constitutivement, cause une résistance naturelle à la plupart des bêta-lactamines ; par dépression génétique, il occasionne une résistance acquise à ces molécules. Les systèmes MexCD-OprJ et MexEF-OprN ne se manifestent pas normalement, mais, suite à des mutations, peuvent être responsables à des résistances acquises multiples, dont le spectre est légèrement différent. (Li XZ et al, 2000) (Figure 08)

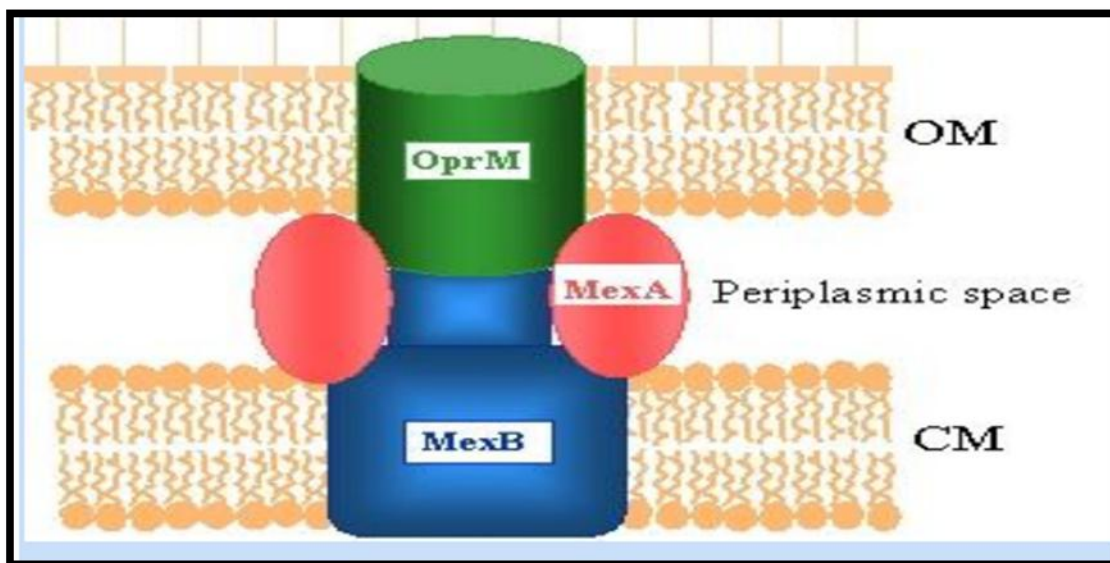


Figure 08 : Représentation schématique de la pompe MexAB-OprM. CM et OM indique les membranes cytoplasmique et extérieure respectivement.

2. Résistance aux aminosides

Un certain nombre d'aminoglycosides sont couramment utilisés dans le traitement des infections à *Pseudomonas aeruginosa* comme la tobramycine, la gentamicine, l'amikacine et la nétilmicine. Leur utilisation est toutefois confrontée au développement de plusieurs mécanismes de résistance. (Poole, 2005)

Quatre mécanismes sont développés par le bacille pyocyanique pour échapper à leur action :

2.1. Résistance par inactivation enzymatique

Représente le mécanisme majeur de résistance à cette famille d'antibiotique, trois types d'enzymes ont été décrites chez *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 09) : les N-amino-acétyltransférases (AAC), qui catalysent l'acétylation d'un groupement NH₂, les O-phosphotransférases (APH) et les Onucléotidyltransférases (ANT) qui permettent respectivement la phosphorylation et la nucléotydation des fonctions –OH. La modification des AAC participe à la résistance de cette espèce à la plupart des aminosides utilisés en thérapeutique (gentamicine, tobramycine, nétilmicine et amikacine).

Pour les APH le niveau de résistance du bacille pyocyanique augmente pour la kanamycine et la néomycine. Enfin les ANT confèrent une résistance à la streptomycine, la spectinomycine, la gentamicine et la tobramycine. (Poole, 2005)

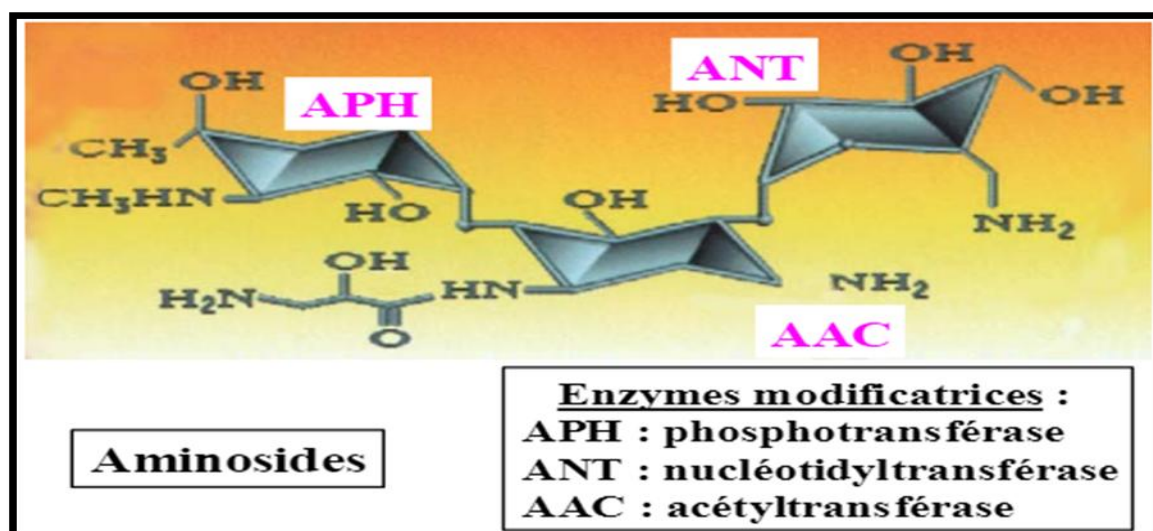


Figure 09 : Inactivation enzymatique

2.1. Résistance par diminution de la perméabilité membranaire

La modification de la perméabilité membranaire réduit la pénétration intracellulaire des aminosides, chez les souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*, l'altération des différents gènes impliqués dans la biosynthèse du lipopolysaccharide, s'accompagne parfois d'une baisse modérée de la sensibilité à l'ensemble des aminosides. (Pascal, 2010)

2.2. Résistance par modification de la cible ribosomale

Plus récemment, la méthylation de l'ARNr 16S a émergé comme un nouveau mécanisme de la résistance aux aminosides parmi les agents pathogènes à Gram négatif telle que *Pseudomonas aeruginosa*, capable de modifier non pas l'aminoside mais la structure ribosomale sur laquelle il se fixe, l'ARN 16S. Le gène RmtA (Résistance méthylase transférase) codant, ce mécanisme a été décrit chez *Pseudomonas aeruginosa* au Japon en 2003. Ces enzymes confèrent des hauts niveaux de résistance aux aminosides cliniquement utilisés, comme l'amikacine, la tobramycine et la gentamicine. Toutefois, il faut souligner que la résistance par mutation du gène codant l'ARNr 16S n'est efficace que chez les bactéries possédant une ou éventuellement deux copies des gènes de l'ARNr 16S. Mais *Pseudomonas aeruginosa* possède quatre copies de ce gène, ainsi la probabilité qu'elles soient affectées toutes les quatre par des mutations identiques est très faible et la résistance par ce mécanisme est peu probable. (Pascal, 2010)

2.3. Résistance par efflux actif

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

Naturellement réprimé chez les souches sauvages, ce système peut être surproduit chez certains mutants, ce mécanisme de résistance aux aminosides semble être la principale cause de résistance non enzymatique à cette famille d'antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*, en particulier parmi les isolats provenant de malades atteints de mucoviscidose. (Pascal, 2010)

3. Résistance aux fluoroquinolones

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la résistance de haut niveau est principalement liée à des mutations au niveau de *gyrA*. Cependant, chez cette espèce, les systèmes d'efflux actif MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ et MexEF-OprN jouent un rôle important dans la résistance intrinsèque aux fluoroquinolones. (Sefraoui ; 2015)

3.1. Résistance par modification de la cible

La modification de la cible primaire pour les fluoroquinolones (ADN gyrase, également connue sous le nom de topo-isomérase II) se produit par des mutations ponctuelles dans la région où se fixe l'antibiotique appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Regions) dans les gènes *gyrA* / *gyrB*, qui code les deux sous unités de l'enzyme ADN gyrase. Les modifications de la cible secondaire (topo-isomérase IV) se produisent à la suite des mutations ponctuelles dans les gènes *parC* et *parE* codant deux sous-unités de cette enzyme. (Hooper, 2001)

3.2. Résistance par efflux actif

La surproduction des pompes d'efflux MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ et MexEF-OprN est à l'origine d'une résistance modérée aux fluoroquinolones ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques. Ainsi, le haut niveau de résistance aux fluoroquinolones chez *Pseudomonas aeruginosa* est attribuable à l'association des surproductions de pompes à efflux et des mutations dans les gènes codant l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV. (Hooper, 2001)

Partie II :
Traitement des
articles

Matériel et Méthodes

1. Isolement de *Pseudomonas aeruginosa*

- Dans le **premier article (Krir et al, 2019)** : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur des prélèvements à visée diagnostique provenant du service de réanimation des brûlés du centre de traumatologie. L'isolement de 1090 souche de *P aeruginosa* a partir de 6827 souches bactériennes ont été réalisée sur la base des caractères morphologiques, culturels et biochimiques à l'aide des galeries API20E®, APINE®.

- **Selon l'article (M'LAN-BRITOH et al, 2017)** : Les 174 souches de *P aeruginosa* ont été isolées au cours de l'analyse microbiologique des divers produits biologiques. Les échantillons ont été prélevés de patients admis dans les services d'hospitalisation. L'isolement des souches a été effectué selon les techniques de bactériologie classique (Galerie conventionnelle).

- **Dans l'article de (Abbas et al, 2018)** : 266 échantillons d'urine ont été prélevés sur des patients avec des infections des voies urinaires admis au service d'urologie, hôpitaux universitaires de Zagazig, Zagazig, Egypte. Un seul échantillon a été prélevé par patient. Des échantillons ont été prélevés à partir d'urine fraîche prélevée à mi-parcours dans des conditions stériles. Les échantillons ont été immédiatement transportés au Laboratoire de microbiologie de la Faculté de pharmacie de l'Université de Zagazig, où ils ont été immédiatement traités.

-**Et selon le 4ème article (Makanéra et al, 2019)** : L'étude a concerné uniquement les 75 échantillons de liquides biologiques dont la recherche a été confirmée par la présence de *Pseudomonas*, durant la période allant du 15 Juin 2014 au 15 Juin 2018 au Laboratoire biomédical de l'Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne de Kipé/Conakry. Les échantillons concernés étaient des urines, des liquides céphalorachidiens, des spermes, des sécrétions vaginales, des pus de plaie, des prélèvements d'ostéomyélite et d'escarres, de liquide pleural, de liquide de cathéter et prélèvement urétral provenant de 75 patients. Ces Echantillons ont été analysés du 15 Juin 2014 au 15 Juin 2018.

2. Identification de *Pseudomonas aeruginosa*

- **Dans l'article de (Abbas *et al*, 2018)** : L'identification de *P. aeruginosa* était basée sur une technique microbiologique standard comprenant : coloration de Gram, morphologie de la colonie, motilité, production de pigment, réaction d'oxydase, croissance à 42 °C, test de liquéfaction de la gélatine et tests d'utilisation du sucre.

- **Selon (Makanéra *et al*, 2019)** : Les examens cytobactériologiques des échantillons ont été réalisés à l'état frais par observation au microscope optique (Microscope XS - 213, Nanjing BW Optics Co., Ltd., Jiangsu, China) suivi de la coloration de Gram des lames porte - objet examinés. Un kit de coloration des bactéries par la méthode de Gram - Hücker (RAL Diagnostics, Martillac, France) a été utilisé. Les cultures bactériennes ont été faites sur différents milieux gélosés : gélose Columbia au sang de mouton 5 % (Liofilchem, Roseto D.A., Italy), gélose nutritive (Liofilchem, Roseto D.A., Italy), gélose Mac Conkey (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et CLED (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France). L'incubation a été faite pendant 18 heures à l'étuve (Sumsung Laboratory Instrument CO., Ltd, Shanghai, China). Des colonies bactériennes uniformes isolées des cultures ont été colorées par la coloration de Gram afin de vérifier leur pureté, étape clé précédant les analyses à l'automate Vitek 2 Compact 15 (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

3. Antibiogramme

- **Dans le premier article (Krir *et al* ; 2019)** : L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide, sur gélose Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries non exigeantes, et sur MH additionnée de 5% de sang de mouton (MH-S) et MH-additionnée de 5% de sang de cheval et 20 mg/l de β -NAD (MH-F) pour les bactéries exigeantes. Les résultats ont été interprétés selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). La résistance à la colistine (CST) a été confirmée par la mesure de la CMI par microdilution sur des plaques UMIC® (Biocentric, Bandol).

- **Selon l'étude de (M'LAN-BRITOH *et al* ; 2017)** : Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques d'antibiotiques standardisés et selon la méthode de Kirby-Bauer [Courvalin *et al*. 1985] Les antibiotiques suivants ont été testés : Cefotaxime 10 μ g (CAZ), Gentamicine 10 μ g (GEN),

Amikacine 30 µg (AKN), Cipro - floxacine 5µg (CIP), Aztréonam 30 µg (ATM), Imipenème 10 µg (IPM), et l'association Ticarcilline+Acide clavulanique 75/10 (TCC) [Oxoid, Angleterre]. La souche de référence utilisée pour le contrôle de la qualité de l'antibiogramme était la souche de *P aeruginosa* ATCC 25853. L'interprétation de la sensibilité aux antibiotiques été faite selon les recommandations du CA-SFM 2016.

4. Détection phénotypique des mécanismes de résistance

4.1. Détection phénotypique de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

- **Dans le 3^{ème} article (Abbas *et al*, 2018) :** Un disque qui contient ceftazidime-clavulanate (30/10 µg) et des disques de ceftazidime (30 µg) ont été placés à une distance de 20mm sur une boîte de Mueller Hinton de 9 cm de diamètre, tel que recommandé par le CLSI. Après une nuit d'incubation à 37°C, une augmentation de 5 mm en zone d'inhibition des disques combinés par rapport au disque de ceftazidime seul, a été considérée comme producteur de BLSE.

4.2. Détection phénotypique des pompes à efflux par l'éthidium (méthode EtBr-CW)

- **Selon (Abbas *et al*, 2018) :** La capacité des pompes à efflux à expulser le bromure d'éthidium a été évalué selon la méthode EtBr-CW 22. Des boîtes contenant la gélose Trypticase soja (TSA) et EtBr allant de 0 à 4 mg/L (ces concentrations ont été déterminées selon les CMI bactériennes d'EtBr) ont été fraîchement préparés sur le jour même de l'expérience et gardé à l'abri des lumières. Cultures de nuit des isolats bactériens testés ont été préparées et ajustés à une norme de turbidité de 0,5 McFarland. Les plaques TSA de 9 cm de diamètre ont été divisées en dix à douze secteurs formant une roue de charrette. Les cultures bactériennes ajustées ont été écouvillonnées sur les plaques Et-Br-TSA en partant du centre de la plaque jusqu'à la marge. Après incubation des plaques à 37 °C pendant 16h, les plaques ont été examinées sous transilluminateur UV (Cole-parmer, Vernon Hills, USA), la concentration minimale d'EtBr qui a produit la fluorescence de la masse bactérienne a été enregistrée. Les isolats étaient considérés Et-Br-CW-négatifs s'ils montraient une émission de fluorescence à 0,5–1 mg/L EtBr, intermédiaire EtBr-CW (émettant fluorescence à 2 mg/L) ou EtBrCW-positif (émettant fluorescence seulement à 3-4 mg/L).

4.3. Détection phénotypique de la production de β -lactamases AmpC

- Selon (Abbas *et al*, 2018) : La production de la β -lactamase AmpC a été détectée de manière phénotypique sur les isolats résistants à la céfoxitine selon (Vanwynsberghe *et al*, 2009). Brièvement, les disques de la ceftazidime (30g) et du céfotaxime (30 g) ont été placés chacun à une distance de 20 mm du disque de céfoxitine (30 g) sur une boîte de Mueller Hinton. La production de l'enzyme AmpC a été confirmée lorsque les zones d'inhibition produites par des céphalosporines (ceftazidime ou céfotaxime) étaient ≥ 5 mm plus grands que la zone d'inhibition des céphalosporines seules.

Résultats

1. Isolement de *Pseudomonas aeruginosa*

- Durant la période d'étude selon (Krir *et al*, 2019) : 6827 souches bactériennes non répétitives ont été isolées. *Pseudomonas aeruginosa* était la principale bactérie isolée (1090) (15,7%). L'évolution de l'écologie bactérienne durant la période d'étude a été marquée par une augmentation de la prévalence des souches de *P. aeruginosa* (passant de 10,6% en 2012 à 15,8% en 2018) (Tableau 02)

Tableau 02 : Répartition des germes isolés chez les brûlés durant la période d'étude

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Total
Bacille à gram négatif	643 (67,7%)	670 (69,2%)	579 (71,6%)	499 (76,3%)	849 (89,3%)	683 (51,5%)	855 (90%)	4778 (70%)
BGNnF*	252 (26,5%)	263 (27,1%)	238 (29,5%)	215 (32,5%)	320 (28,6%)	344 (25,9%)	310 (27,9%)	1942 (28,4%)
p.aeruginosa	101 (10,6%)	149 (15,4%)	113 (14%)	122 (18,6%)	225 (20,1%)	222 (16,7%)	173 (15,8%)	1090 (15,7%)

*BGNnF = bacille à gram négatif non fermentaire

- Dans l'article de (M'LAN-BRITOH ; 2017) : Un total de 174 souches de *P. aeruginosa* non répétitives a été recensé. Au niveau des caractéristiques épidémiologiques des patients de cette étude, une prédominance masculine a été observée avec un sexe-ratio de 1,6. Les produits biologiques provenaient des services de médecine dont 25%, suivi du service mère-enfant et du service de réanimation dont respectivement 17% et 14%. Les souches de *P. aeruginosa* étaient isolées principalement dans des suppurations et dans les urines respectivement dans 45% (78/174) et 27% (47/174) des cas (Tableau 03)

Tableau 03 : Distribution des souches de *P aeruginosa* selon le produit biologique d'isolement

Nature du produit biologique	Effectif	%
Urine	47	27
Suppuration	78	45
Non Précisé	10	6
Aspiration bronchique	10	6
Hémoculture	14	8
Bout de sonde et cathéter	12	7
Autres (LCR et Liquide pleural)	3	1
Total	174	100

- **Dans l'article de (Makanéra et al ; 2019)** : Un total de 75 souches du genre *Pseudomonas* ont été isolées sur des patients. Le sexe féminin était majoritaire avec un sexe ratio (H/F) = 0,875. L'âge moyen des patients était de 49,12±23,48 ans [18 jours- 90 ans]. Il faut noter que la majorité (56% = 42/75) de ces souches de *Pseudomonas* ont été isolées chez des patients âgés de 50 ans et plus. (Tableau 04)

Tableau 04 : Caractéristiques sociodémographiques des patients

Caractéristiques	Effectif (N=75)	Pourcentage
Age		
< 50 ans	33	44,0
≥ 50 ans	42	56,0
Age Moyen 49,12±23,48 ans [18 jours-90 ans]		
Sexe		
Masculin	35	46,7
Féminin	40	53,3
Profession		
Ménagères	24	32,0
Fonctionnaires	16	21,3
Commerçants	9	12,0
Elève_Etudiants	6	8,0
Agriculteur	7	9,3
Sans emplois	5	6,7
Ouvriers	8	10,7
Provenance		
Urbaine	68	90,7
Rurale	7	9,3

- Dans l'étude (Makanéra *et al* ; 2019) : Un total de 75 souches de *Pseudomonas spp.* a été isolée de différents échantillons de prélèvements biologiques de natures différentes. Les urines représentaient la majorité de ces échantillons, (69,3%) suivies des pus de plaies (13,3%) (Figure 10)

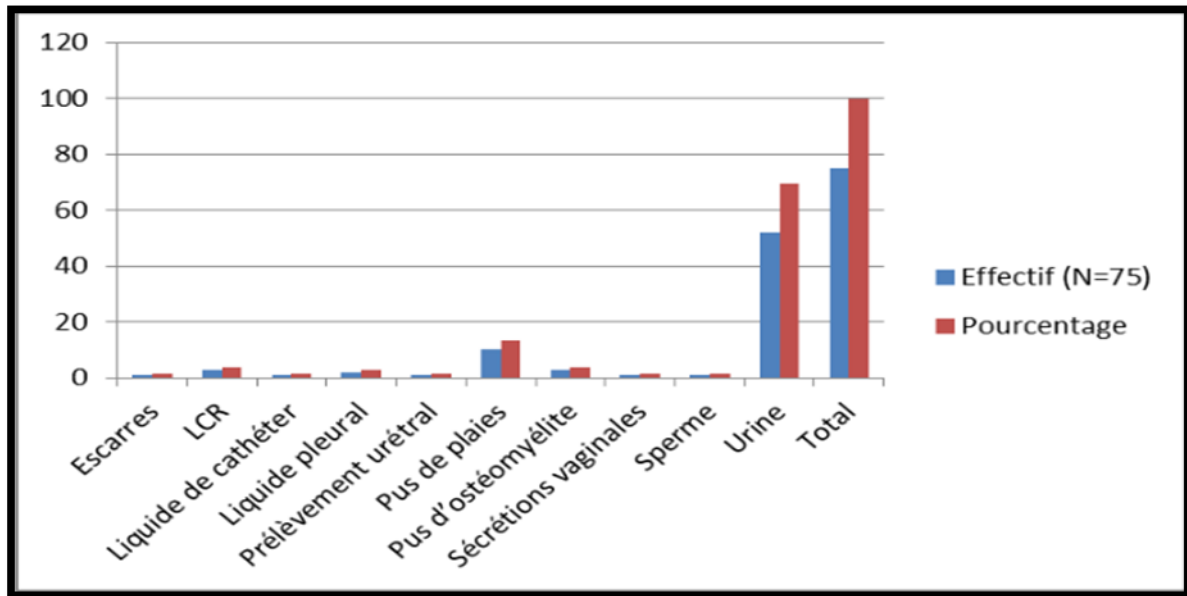


Figure 10 : Répartition des souches de *Pseudomonas* en fonction des différents types d'échantillons

2. Identification de *Pseudomonas aeruginosa*

- Selon (Makanéra *et al* ; 2019) : Six (6) espèces différentes de *Pseudomonas* ont été identifiées avec une majorité de l'espèce *P. aeruginosa* (58,7%), suivie de *P. luteola* (20%) et de *P. fluorescens* (13%). Les trois autres espèces de *Pseudomonas* identifiées (*P. putida*, *P. Oryzihabitans* et *P. mendocina*) étaient représentées chacune par une seule souche. (Tableau 05)

Tableau 05 : Fréquences d'identification de différentes espèces de *Pseudomonas*

Germe	Effectif (N=75)	Pourcentage	IC95%
<i>P.aeruginosa</i>	44	58,7	47,4-69,1
<i>P.luteola</i>	15	20,0	12,5 – 30,4
<i>P.fluorescens</i>	13	17,3	10,4 – 27,4
<i>P.mendocina</i>	1	1,3	0,2 – 7,2
<i>P.oryzihabitans</i>	1	1,3	0,2 – 7,2
<i>P.putida</i>	1	1,3	0,2 – 7,2

3. Antibiogramme

- **Selon (Krir et al, 2019)** : L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de l'année 2012 à l'année 2018 a montré une évolution variable de la résistance (Tableau 06). La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques habituellement prescrits a augmenté durant la période d'étude. En effet, la résistance à la ceftazidime est passée de 9,2% en 2012 à 53,5% en 2018 avec un pic de 61,3% en 2016. Celle à l'imipénème est passée de 46,5% à 68,7% avec un pic de 84%, également en 2016. Les molécules les plus actives étaient la fosfomycine (FOF) et la colistine (CST).

Tableau 06 : Évolution de la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* durant la période d'étude.

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Total
PIP	20,8%	49,6%	54,5%	65,8%	84,4%	72,1%	71,3%	59,8%
TZP	20,6%	42,4%	52,3%	68,8%	82,2%	71%	67,7%	57,8%
CAZ	9,2%	25,3%	17,4%	28,7%	61,3%	54,4%	53,5%	35,7%
AZT	19%	46,8%	56,8%	62,8%	95,5%	100%	100%	68,7%
IPM	46,5%	46,5%	57,7%	72,9%	84%	66,5%	68,70%	63,2%
AMK	52%	52,1%	69,9%	76,2%	80%	75,7%	76,6%	68,9%
GEN	62%	71,7%	74,5%	78,3%	79,5%	74,8%	78,6%	74,2%
CIP	42,4%	46,9%	45%	13,9%	32,9%	55,2%	64,5%	42,9%
FOF	45,4%	50%	40,6%	48,6%	35,3%	32,3%	22,9%	39,3%
CST	0%	0%	0%	1,63%	0%	0,45%	3,85%	0,8%

GEN = gentamicine ; FOF = fosfomycine ; IPM= Imipénème ; CIP= ciprofloxacine ; CAZ= ceftazidime ; CST= colistine

- Dans l'article de (M'LAN-BRITOH *et al*, 2017) : L'imipénème représentait la molécule la plus active au niveau des Bétalactamines avec 92% de souches sensibles. Plus de la moitié des souches était sensible à la Ceftazidime (71%) qui est l'antipyocyanique le plus connu des cliniciens. La seconde classe thérapeutique active était celle des aminosides dont 89 % de souches sensibles pour l'Amikacine et 80% pour la Gentamycine les plus communément utilisés en association avec avec la Ceftazidime. Et enfin 80% de sensibilité a été observée à la Ciprofloxacine. (Tableau 07)

Tableau 7 : Distribution des souches de *P. aeruginosa* selon les profils de résistance aux antibiotiques au CHU de Yopougon de 2010 à 2016.

Antibiotiques	Sensible n (%)	Résistants n (%)
Amikacine	154 (89%)	20 (11%)
Aztréonam	110 (63%)	64 (37%)
Ceftazidime	107 (61%)	67 (39%)
Ciprofloxacine	139 (80%)	35 (20%)
Gentamycine	140 (81%)	34 (19%)
Imipénème	160 (92%)	14 (8%)
Ticarcilline + Acide Clavulanique	100 (57%)	64(43%)

4. Détection phénotypique des mécanismes de résistance

- Dans l'article (Abbas *et al*, 2018) : L'IMP-EDTA-CDT a été réalisé pour les 5 isolats résistants à l'imipénème et les résultats ont révélé que 2 des ces isolats étaient producteurs de MBL (Fig. 11 A). Aucun des isolats *P. aeruginosa* étaient producteur de BLSE (Fig. 11 D).

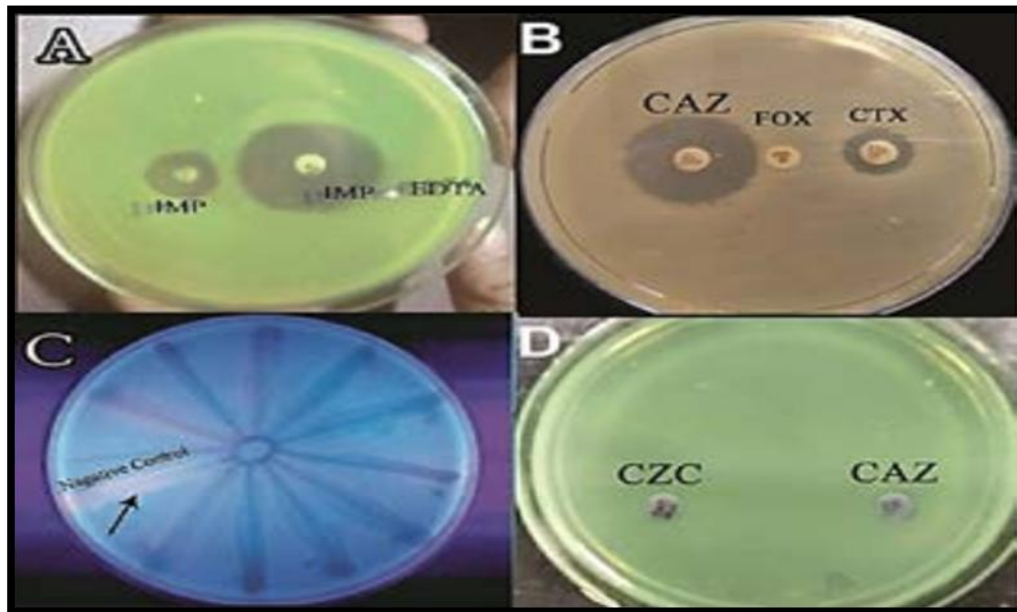


Figure 11 : Détection phénotypique des mécanismes de résistance.

- * **A**, détection de M β L par la méthode IMP-EDTA-CDT, les isolats positifs ont montré une augmentation de ≥ 7 mm de la zone d'inhibition dans présence d'EDTA.
- * **B**, détection de la β -lactamase AmpC, les isolats positifs montrent que zones d'inhibition produites par les céphalosporines (CAZ ou CXT) lorsqu'elles sont utilisées avec la céfoxitine (Fox) étaient 5 mm plus grands que la zone des céphalosporines seules.
- * **C**, détection des pompes d'efflux par la méthode EtBr-CW, tous les isolats n'ont pas montré d'émission de fluorescence.
- * **D**, détection de BLSE à l'aide de ceftazidime (CAZ) et de ceftazidime -disques de clavulininc (CZC), aucun des isolats n'a montré de résultats positifs.

Discussion

Discussion

Pseudomonas aeruginosa est l'une des principales causes d'infections en milieu hospitalier. Au cours de ces dernières décennies, une augmentation de la problématique des infections à cette bactérie, lié aux souches multirésistantes aux antibiotiques a été observée à travers le monde entier.

La présente étude avait pour objectif de déterminer la sensibilité des souches de *P. aeruginosa* isolées dans un Hôpital. C'est une Agent opportuniste, ce bacille à Gram négatif de l'environnement se révèle souvent redoutable chez les sujets à immunité affaiblie notamment dans la surinfection de sites opératoire et brûlures ainsi que chez les malades intubés-ventilés des services de réanimation. *P. aeruginosa* est isolé fréquemment au cours d'infections respiratoires et de suppurations cutanées. Par ailleurs, contrairement aux auteurs sus cités, nous avons observé une faible proportion de souche isolées. *P. aeruginosa* est également de plus en plus incriminé dans les infections urinaires. Dans cette étude le deuxième produit biologique plus fréquent était représenté par les échantillons d'urines avec 27% (47/174). Ce résultat semble proche de ceux de (Van et al, 2003) qui trouvent respectivement 26,36% et 21%. (M'LAN-BRITOH et al, 2017)

Le sexe féminin était majoritaire avec un sexe ratio (H/F) = 0,875. L'âge moyen des patients était de 49±23ans avec les extrêmes de 18 jours-90 ans.

La détection phénotypique de la production de MβL a révélé que seulement 2 des 5 résistants à l'imipénème les isolats (40 %) étaient MβL-positifs. Une ancienne étude égyptienne a rapporté des résultats relativement similaires où 27% des *P. aeruginosa* étaient des producteurs de MβL.

Tous les isolats testés étaient producteurs de β-lactamase *AmpC*. (Chika et al, 2016), ont constaté que 36 % des isolats de *P. aeruginosa* étaient des producteurs d'*AmpC*. La présence d'*AmpC* β-lactamase a été confirmée par PCR.

Le système d'efflux contribue à la résistance naturelle des bactéries à une large gamme d'antibiotiques et de détergents. Dans cette étude, un efflux actif a été détecté dans tous les isolats. Ceci était conforme à (Rana et al ; 2015) qui a signalé la présence d'efflux dans tous les isolats MDR.

Les infections nosocomiales constituent un problème grave chez les brûlés en réanimation, du fait de la mortalité et du coût d'hospitalisation qu'elles engendrent.

La connaissance de l'écologie bactérienne locale aide au choix de l'antibiothérapie de première intention et contribue par conséquent à améliorer le pronostic de ces patients.

P. aeruginosa était la principale bactérie isolée dans notre étude. Ce germe joue un rôle majeur dans les infections chez le brûlé. Sa prolifération étant favorisée par l'environnement humide souvent rencontré dans les centres des brûlés (bains, pansements, solutions d'antiseptiques...), *P. aeruginosa* peut survivre longtemps dans ces niches, constituant un risque d'infection chez ces patients. Par ailleurs, ce germe secrète un grand nombre de toxines et d'enzymes responsables de sa virulence, qui s'expriment préférentiellement sur le terrain immunodéprimé induit par la brûlure. La capacité de *P. aeruginosa* à former un biofilm est un facteur important associé à la persistance bactérienne et aux infections, car ceci peut entraver l'action des antibiotiques. Les infections causées par ce germe sont souvent difficiles à traiter en raison du niveau élevé de résistance aux antibiotiques, et par conséquent la réduction des alternatives thérapeutiques. La mortalité associée est ainsi importante. En effet, d'après l'étude de **(Lari et al, 2000)** menée dans un centre de brûlés en Iran, on observait une mortalité de 18,5%, montant à 89% due à *P. aeruginosa*.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré une évolution variable des résistances selon les germes isolés. La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques habituellement prescrits a augmenté durant les études suscitées. Ce constat est partagé par d'autres auteurs tels que **(Kaushik et al, 2001)**. Ceci compromet leur efficacité clinique et rend plus difficile le choix du traitement. Dans ces études, *P. aeruginosa* présentait des résistances élevées aux bêta-lactamines. En effet plus du tiers des souches étaient résistantes à ceftazidime (CAZ) et aztréonam (AZT). Le pourcentage de résistance à l'imipénème (IPM) (63,2%) était nettement supérieur à ceux rapportés dans d'autres études. Ceci serait probablement dû à son utilisation importante dans le traitement des infections nosocomiales à *P. aeruginosa* devant le profil multirésistant de ce germe. Pour les aminosides, les résultats rejoignent ceux d'autres études avec une augmentation des résistances chez *P. aeruginosa*, qui serait en rapport avec leur utilisation fréquente en association avec les bêta-lactamines. La résistance aux fluoroquinolones était cependant moins élevée que celles rapportées dans d'autres études en Amérique latine, dans lesquelles les fluoroquinolones présentaient les taux les plus élevés de résistances chez *P. aeruginosa*. **(Kriri et al ; 2019)**

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est devenue une préoccupation mondiale et constitue un problème majeur de santé publique. En effet, nous assistons à une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif. Depuis l'émergence de *Pseudomonas aeruginosa* autant que pathogène opportuniste majeur, de nombreuses épidémies hospitalières ont été décrites. Concernant l'imipénème, la résistance de *P. aeruginosa* est passée de 46,5% à 68,7%. Les molécules les plus actives vis à vis de *P. aeruginosa* étaient fosfomycine et colistine. Les mesures d'hygiène appliquées dans le service de réanimation des brûlés (lavage des mains, dépistage des patients colonisés par des BMR et structures adaptées à leur isolement) sont des mesures importantes pour lutter contre la multirésistance des bactéries. Par ailleurs, le bon usage des antibiotiques constitue également un élément clé dans cette lutte. D'où l'importance d'une surveillance épidémiologique régulière de l'écologie bactérienne du service et le respect des règles d'hygiène. Ainsi au final de ce travail, nous concluons qu'avant toute antibiothérapie, il convient de réaliser une étude bactériologique en évaluant la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés, d'adapter le choix thérapeutique en fonction des résultats de l'antibiogramme.

Références bibliographiques

- **Bibbal D.** (2008). Impact des bêta-lactamines sur l'émergence d'entérobactérie résistante dans la flore digestive chez le porc : Caractérisation et stratégie de prévention. Université de Toulouse.
- **Bounoua S.** (2018). 'Étude de quelques modèles des bactéries résistantes aux antibiotiques'. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- **Bourahla N, Haddache W.** (2015). 'Etude de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015'. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **Charlier P., Coyette J., Dehareng D., Dive G., Duez C., Dusart J., Fonzé É., Fraipont C., Frère J-M., Galleni M., Goffin C., Joris B., Josette Lamotte-Brasseur J., Nguyen-Distèche M.** (1998). Résistance bactérienne aux β -lactamines. médecine/sciences, 14 (5) : 544-555
- **Chika E, Charles E, Ifeanyichukwu I, Chigozie U, Chika F, Carissa D et al.** (2016) Phenotypic detection of AmpC Beta-lactamase among anal *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a Nigerian Abattoir. Archive of Clinical Microbiology.
- **Fatnassi A.** (2020). L'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées de différents prélèvements pathologiques à l'hôpital El-Hakim Saâdan-Biskra. Université Mohamed Khider de Biskra.
- **Figarella J, Leyral G, Terret M.** (2007). Microbiologie générale et appliqué. Paris: DELEGRAVE édition. p. 106-8.
- **Gaudy C , Buxeraud J.** (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Paris : ELSEVIER édition. p. 23-4
- **Gangoue P. J.** (2007). Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat. Université de Liège. Belgique. 104P.
- **Gougeon A,** (2017). Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* : analyse de 181 épisodes bactériémiques documentés dans deux établissements hospitaliers du Nord de la France. Université de Lille 2.
- **Grare M.** (2009). De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphénols cycliques de type calixarène. Etude moléculaire (s), cellulaire (s) et structurale (s) en vue de l'identification des cibles d'action : le cas du paraganidinoéthylcalix [4]arène. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy-I. 263P.
- **Hooper DC.** (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolones resistance. Emerg Infect Dis. Mar-Apr; 7(2): 337-41.

- Hogardt M, Hoboth C, Schmoldt S, Henke C, Bader L, Heesemann J.** (2007). Stage-specific adaptation of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* isolates during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. *195*:70-80
- **Kaushik R, Kumar S, Sharma R et coll.** (2001). Bacteriology of burn wounds - The first three years in a new burn unit at the Medical College Chandigarh. *Burns*, *27*: 5957
- **Khalilzadeh P.** (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III).
- **Lari AR.** (2000). Alaghebandan R: Nosocomial infections in an Iranian burn center. *Burns*, *26*: 737-40
- **Léon L M, Michel V.** (1990). Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Flammarion édition. p. 567-73.
- **Li XZ, Barre N, Pool K.** (2000). Influence of the Mex-AB-OprM multi-drug efflux system on expression of the Mex-CD-OprJ and Mex-EF-OprN multi-drug efflux system in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* Dec ; *46*(6) : 885-93.
- **Lupo, V.** (2018). Origine et évolution des bêta-lactamases de classe D. Université de Liège.
- Nordman P, Guibert M.** (1990). Extended -spectrum bêtaclamase in *Pseudomonas aeruginosa*.*J Antimicrob Chemother.* *42*(2) : 128-31.
- Oliver A, Canto'n R, Campo P, Baquero F, Bla'zquez J.** (2000). High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science*; *288*:1251–4.
- Pascal C.** (2010). Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux [Thèse]. Besançon : Université de Franche-Comté.
- **Patrick B, Jean-Louis G, Michel S.** (1989). Bactériologie ; les bactéries des infections humaines, de la biologie à la clinique. 2 ème édition. Paris : Flammarion édition. p. 233-5.
- **Perry J, Staley J, Lory S,** (2002). Microbiologie. Etats Unis: Sinauer Associates édition.p. 163

- **Poole K.** (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* Feb ; 49(2) : 479-87.

- **Rana T, Kaur N, Farooq U, Khan A, Singh S.** (2015). Efflux as an arising cause of drug resistance in Punjab (India). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*; 4(9): 5967-5979.

- Sanders P, Perrin-Guyomard A, Moulin G.** (2017). Évolution de l'utilisation des antibiotiques en production animale. *Cahiers de nutrition diététique*, 381 : 1-11

- **Sefraoui I.** (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien 2015 [Thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid.

- **Singleton P.** (2005). *Bactériologie pour la médecine, les biologies et les biotechnologies.* 2ème édition. Paris : Dunod édition. p. 45.

- **Vanwynsberghe T, Verhamme K, Raymaekers M, Car - tuyvels R, Vaerenberg KV, Boela A, de Beenhouwer H.** (2009). A large hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* (DHA-1 and SHV-11 positive): Importance of detection and treatment of AmpC β -lactamases. *The Open Infectious Disease Journal*; 3: 55-60.

- Weldhagen GF, Poirel L, Nordman P.** (2003). Ambler class A Extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(8) : 2385-92.

Annexes

Annexe 1 : Article 1

PROFIL BACTÉRIOLOGIQUE ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTÉRIES ISOLÉES DANS UN SERVICE DE RÉANIMATION DES BRÛLÉS DURANT SEPT ANS

BACTERIOLOGICAL PROFILE AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF ISOLATED BACTERIA IN A BURN INTENSIVE CARE UNIT OVER SEVEN YEARS

Krir A.,[□] Dhraief S.,¹ Messadi A.A.,² Thabet L.¹

¹Laboratoire de Biologie Médicale et Banque du Sang, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, Ben Arous, Tunisie

²Service de Réanimation des Brûlés, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, Ben Arous, Tunisie

RÉSUMÉ. Cette étude, menée rétrospectivement sur sept ans, avait pour objectif d'établir le profil bactériologique et la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés chez les brûlés hospitalisés dans le service de réanimation des brûlés. L'identification des germes était réalisée selon les méthodes conventionnelles et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques était effectuée selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). *Pseudomonas aeruginosa* était la principale bactérie isolée, suivie de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii*. Ces souches ont été isolées principalement à partir d'hémocultures (37%). La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la ceftazidime (CAZ) est passée de 9,2% en 2012 à 53,5% en 2018. Celles à l'imipénème (IPM) et à la ciprofloxacine (CIP) étaient de 63,3% et 42,9% respectivement. Quatre souches étaient résistantes à la colistine (CST). La résistance de *S. aureus* à la méthicilline était en baisse passant de 65,3% en 2012 à 41,6% en 2018. Toutes les souches étaient sensibles aux glycopeptides, à la tigécycline (TGC) et au linézolide (LZD). *A. baumannii* pose un problème de multi-résistance aux antibiotiques avec 81,8% de résistance à CAZ, 88,9% à l'amikacine (AMK), 90,5% à CIP et 94,5% à IPM. Seize souches étaient résistantes à CST. Concernant *K. pneumoniae*, 77,5% des souches étaient résistantes au céfotaxime (CTX) et 5,2% à IPM. Deux souches étaient résistantes à CST. La résistance à la vancomycine (VAN) chez *Enterococcus faecium* est passée de 33,4% en 2012 à 72,2% en 2018. La multirésistance aux antibiotiques chez les brûlés impose une surveillance épidémiologique de l'écologie bactérienne et l'application des mesures d'hygiène.

Mots-clés : brûlé, résistance, antibiotiques, bactéries

SUMMARY. This study was retrospective, conducted over seven years at the Trauma and Burn Centre. Its purpose was to establish the bacteriological profile and antibiotic resistance of isolated bacteria in patients admitted to the Burn Intensive Care Unit. Identification was carried out according to the conventional methods and antibiotic susceptibility was analyzed according to the standards of the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology. *Pseudomonas aeruginosa* was the main isolated bacterium, followed by *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*. These strains were isolated mainly from haemocultures (37%). The resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ceftazidime increased from 9.2% in 2012 to 53.5% in 2018. The resistance to imipenem and ciprofloxacin was 63.3% and 42.9% respectively. Four strains were resistant to colistin. The resistance of *S. aureus* to methicillin decreased from 65.3% in 2012 to 41.6% in 2018. All strains were susceptible to glycopeptides, tigecycline and linezolid. *A. baumannii* was multi-resistant to antibiotics with 81.8% resistance to ceftazidime, 88.9% to amikacin, 90.5% to ciprofloxacin and 94.5% to imipenem. Sixteen strains were resistant to colistin. Concerning *K. pneumoniae*, 77.5% of strains were resistant to cefotaxime and 5.2% to imipenem. Two strains were resistant to colistin. Vancomycin resistance in *Enterococcus faecium* increased from 33.4% in 2012 to 72.2% in 2018. Multidrug resistance in burn patients calls for an epidemiological surveillance of bacterial ecology and the application of hygiene measures.

Keywords: burns, resistance, antibiotics, bacteria

Annexe 2 : Article 2

Article Original

Diversité et sensibilité aux antibiotiques

Diversité et sensibilité aux antibiotiques de différentes espèces de *Pseudomonas* à l'Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne, Kipé/ConakryDiversity and sensitivity to antibiotics of different species of *Pseudomonas* at Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne, Kipé/Conakry

Makanéra A^{1,2*}, Sidibé S³, Camara A⁴, Camara LB³, Condé M⁴, Diallo MA¹, Condé M⁴, Diakité T¹, Camara D¹, Barry AO¹, Sy O¹

- 1- Laboratoire biomédical de l'Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne, Kipé, Conakry, Guinée
- 2- Université Gamal Abdel Nasser de Conakry, Faculté de Sciences et Techniques de la Santé, Département des Sciences fondamentales ; Conakry, Rép. Guinée
- 3- Université Gamal Abdel Nasser Faculté de Sciences et Techniques de la Santé, Département de Pharmacie, Conakry, Guinée

Auteur pour Correspondances : Abdoulaye MAKANERA, Laboratoire biomédical de l'Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne, Kipé, Cité des Médecins, Commune Ratoma 030 BP : 710 Conakry, GUINÉE Université Gamal Abdel Nasser Conakry, Faculté de Sciences et Techniques de la Santé Chaire Bactériologie-Virologie, Conakry, République Guinée ; e-mail: abdmak@yahoo.fr

Résumé

Introduction : Les infections à *Pseudomonas* constituent un réel problème de santé publique mondiale. L'objectif de cette étude était de déterminer les espèces de *Pseudomonas* isolées de diverses sécrétions biologiques ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques. **Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée à l'Hôpital de l'Amitié Sino-Guinéenne de Juin 2014 à Juin 2018. Les cultures ont été faites sur milieux gélosés. L'identification bactérienne, les antibiogrammes et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été faites à l'automate Vitek2 Compact 15. **Résultats :** Soixante-quinze souches de *Pseudomonas* ont été identifiées : *Pseudomonas aeruginosa* (44), de *Pseudomonas luteola* (15), *Pseudomonas fluorescens* (13), *Pseudomonas mendocina* (1), *Pseudomonas oryzae* (1) et *Pseudomonas putida* (1). L'âge moyen des patients était de 49,12±23,48 ans [18 jours-90 ans]. Le sexe-ratio (M/F) = 0,875. La majorité des souches étaient sensibles à l'imipénème (93,33%), l'amikacine (88,00%), la gentamicine (72,00%), la tobramycine (70,66%), piperacilline/tazobactam (70,66%), la ceftazidime (60,00%), céfotaxime (54,66%), à l'ofloxacine (57,33%) et la ciprofloxacine (58,66%). En revanche, ces souches étaient résistantes à l'ampicilline (89,33%), triméthoprim/sulfaméthoxazole (89,33%), l'acide nalidixique (85,33%), la céfalotine (77,33%), la ticarcilline (68,00%), la cefoxitine (64,00%), et la nitrofurantoïne (57,33%). Des cas de multi-résistance aux antibiotiques ont été observés avec CMI élevées. Particulièrement, une souche de *Pseudomonas aeruginosa* désignée N°64 était multi-résistante à tous les d'antibiotiques testés. **Conclusion :** Six espèces de *Pseudomonas* ont été identifiées avec des phénotypes de multi-résistance aux antibiotiques habituellement utilisés en Guinée.

Mots clés : Antibiotiques, Kipé/Conakry, multi-résistance, *Pseudomonas*.

Abstract

Introduction: Infections caused by different species of *Pseudomonas* are amongst leading causes of morbidity and mortality worldwide. The aim of this study was to determine different species of *Pseudomonas* isolated from

Annexe 3 : Article 3

Phenotypic and genotypic detection of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections

Hisham A Abbas¹, Amira M El-Garni¹, Hend A Kanel^{1,2}

1. Microbiology and Immunology Department, Faculty of Pharmacy, Zagazig University, Zagazig, Egypt

2. Microbiology Department, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Industries, Sinai University, Kantara, Egypt.

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a major nosocomial uropathogen. It can tolerate a wide variety of physical conditions and many antibiotics by different resistance mechanisms.

Objectives: This study aimed to investigate the mechanisms of antibiotics resistance in uropathogenic *P. aeruginosa* clinical isolates.

Methods: Two hundred sixty six urine samples were collected from Zagazig University Hospitals, Zagazig, Egypt. *P. aeruginosa* isolates were identified using standard microbiological tests. The sensitivity to different antibiotics was determined by disc diffusion method. Anti-microbial resistance mechanisms were investigated using phenotypic methods and confirmed by PCR.

Results: Fifty *P. aeruginosa* isolates were recovered. All isolates were MDR and were resistant to amoxicillin/clavulanic, sulphamethazole/trimethoprim, doxycycline and ceftazidime. Phenotypic detection of resistance mechanisms revealed that all strains have efflux mechanism, outer membrane porins, and AmpC β -lactamase; none of the strains showed ESBL activity and two of the imipenem resistant strains showed M β L activity. PCR analysis showed that all strains have MexAB-R, OprD and AmpC genes, 42 strains had PSE gene, while VEB and VIM genes were not detected.

Conclusion: The resistance rates in *P. aeruginosa* were higher than global values; this resistance was attributed to several mechanisms. This high resistance is alarming and necessitates applying strict antibiotic prescription policies.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, urinary tract infections, antibiotic resistance, resistance mechanisms.

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ahs.v15i13>

Cite as: Abbas HA, El-Garni AM, Kanel HA. Phenotypic and genotypic detection of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *Afr Health Sci* 2018;18(1): 11-21. <https://dx.doi.org/10.4314/ahs.v15i13>

Introduction

Pseudomonas aeruginosa is one of the most ecologically significant species among the genus *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* is of extreme importance because of the wide spread distribution of its strains in nature, its high intrinsic anti-bacterial resistance and its virulence¹.

P. aeruginosa is an opportunistic, hospital-acquired pathogen that causes severe diseases in immuno-compromised individuals including urinary tract infection. Urinary tract infections (UTIs) are some of the most frequent bacterial infections, affecting 150 million people annually worldwide². *P. aeruginosa* is the third most common pathogen associated with nosocomial catheter-associated UTIs³. Despite advances in anti-microbial therapy, the mortality and morbidity associated with *P. aeruginosa* induced UTIs remain significantly high⁴. One key reason for therapy failure is the increased level of antibiotic resistance among clinical *P. aeruginosa* isolates⁵. Thus, the detection of the underlying resistance mechanisms is critical for better

Corresponding author:

Hisham Abdel Monem Abdel Hamid Abbas,
Egypt, Zagazig, Zagazig University,
Faculty of Pharmacy,
Department of Microbiology and Immunology.
Fax No: (002)0552303266

Annexe 4 : Article 4

Revue Bio-Africa - N° 16 - 2017, pp. 20-25
© EDUCI 2017

SENSIBILITÉ AUX ANTIMICROBIENS DE SOUCHES DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLÉES DANS UN HÔPITAL DE NIVEAU TERTIAIRE EN CÔTE D'IVOIRE.

M'LAN-BRITOH ALICE^{1,2*}, MEITÉ SYNDOU^{1,2,3}, BONI CISSÉ CATHERINE^{1,2,3},
KOFFI K STÉPHANE^{2,3}, ZABA FLORE¹, GUESSENND NATHALIE^{2,3},
FAYE- KETTE HORTENSE^{1,2,3}, DOSSO MIREILLE^{1,2,3}

RÉSUMÉ

Contexte : *P aeruginosa* est un pathogène responsable d'infections nosocomiales. Actuellement, l'évolution croissante de la résistance de cette bactérie aux antibiotiques pose un problème de santé publique. L'objectif de cette étude était de déterminer le niveau de résistance des souches cliniques de *P aeruginosa* dans un hôpital de niveau tertiaire d'Abidjan, en Côte d'Ivoire.

Méthodes : Les souches de *P aeruginosa* isolées de divers produits biologiques de ont été collectées de Janvier 2010 à Décembre 2016. L'isolement et identification ont été réalisés à l'aide des méthodes classique de bactériologie. L'antibiogramme a été effectué par la technique de diffusion en milieu gélosé et l'interprétation selon les recommandations du comité français d'antibiogramme (CA.SFM2016).

Résultats : Près de 45% (78/174) des souches isolées provenaient sécrétions purulentes. L'Imipénème

représentait la molécule la plus active au niveau des Bétalactamines avec 92% de souches sensibles et la sensibilité de la Ceftazidime, l'antipycianique majeure dans notre contexte était de 71% (124/174). La seconde classe thérapeutique active était celle des aminosides avec 89% (155/174) l'Amikacine et 80% (140 /174) de souches sensibles à la Ciprofloxacine. La plus faible sensibilité de souches 57% (100/174) a été observée avec le Ticarcilline + Acide Clavulanique.

Conclusion : Les Bétalactamines restent les antibiotiques les plus couramment utilisés en Côte d'Ivoire dans le traitement des infections à *P aeruginosa*. Aussi, devant la présence de souches de sensibilité diminuée en présence des Bétalactamines, principalement de l'Imipénème il est urgent de mettre en place une surveillance active de la résistance dans le Pays.

MOTS-CLÉS : *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* - ANTI-BIOTIQUES - RÉSISTANCE - CÔTE D'IVOIRE.