

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار-عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT  
En Science  
Option : Microbiologie appliquée

### THEME

Evaluation de la résistance et de l'effet post antibiotique des bêta-lactamines et des aminosides vis à vis des souches pathologiques de  
*Pseudomonas aeruginosa*

Directeur de thèse : Pr Chettibi Houria Université Badji- Mokhtar (Annaba)

Présentée par : Khacha Nadjat

#### Membres de Jury:

Président : Pr Abassi N. Université Badji- Mokhtar (Annaba)

Examineurs : Dr Abdi A. Université Badji- Mokhtar (Annaba)

Pr Arhab. R Université Larbi Ben M'hidi (Oum El-Bouaghi)

Pr, Houhamdi M Université 8mai 1945(Guelma)

Dr Mechai A. Université Larbi Tebessi (Tébessa)

N° DBCH...../2018

Année universitaire 2018 / 2019.

# Remerciements

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à :*

Madame le Professeur **Chettibi Houria**, Directrice de ma thèse, pour toute l'attention, la générosité de cœur, l'amabilité, la disponibilité, l'encouragement continu, le soutien sans égal et la supervision constante dont elle a fait preuve durant tout mon cursus doctoral. Veuillez trouver ici le témoignage de toute ma gratitude, ma profonde reconnaissance et ma grande estime.

Madame le Professeur **Abassi Nafissa**, de l'Université **Badji- Mokhtar (Annaba)** pour la bienveillante attention qu'elle a accordée à ce travail et d'avoir bien voulu accepter de siéger dans ce jury.

Docteur **Abdi Akila**, Maitre de conférence **Ade UniversitéBadji- Mokhtar (Annaba)**, pour sa gentillesse, sa bienveillance et son amabilité à bien vouloir accepter de juger ce travail. Je vous remercie chaleureusement pour la confiance et le soutien que vous m'accordez pendant la période d'encadrement de ma thèse de Magister et après par l'encouragement et le soutien pendant les périodes difficiles.

**Monsieur** le Professeur **Arhab R.** de l'Université **Larbi Ben M'hidi (Oum El-Bouaghi)**, pour la bienveillante qu'il a accordée à ce travail et d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

**Monsieur** le Professeur, **Houhamdi Moussade** l'Université de **8mai 1945(Guelma)** aussi pour la bienveillante qu'il a accordée à ce travail et d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail

**Et Monsieur** le Docteur **Mechai Abdelbasset**Maitre de conférence **A**, de **Université Larbi Tebessi (Tébessa)** pour la bienveillante qu'il a accordée à ce travail et d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Je remercie très sincèrement monsieur **Amoura Kamel.**, Professeur, Université **Badji- Mokhtar (Annaba)** de faculté de médecine.

## Remerciements

Un remerciement aussi particulier à un couple aussi aimable et actif ; **M<sup>me</sup>Abaz née Ben Djadou Amel** Profeseur de l'université de Mohamed Cherif Messaadia Souk Ahras et **M<sup>r</sup> Abaz Tahar** Maitre de conférence classe A de l'université de Mohamed Cherif Messaadia Souk Ahras pour toute aide conseil et soutien.

Un remerciement aussi particulier à **M<sup>elle</sup> Zouied Fatiha** ; pharmacienne de laboratoire de l'hôpital d'Elhadjar, à **Mr Mansouri Tarek** ; pharmacien propriétaire de laboratoire d'analyse à Souk Ahras, à **Mr Ramdani Mohamed** ; chef service de laboratoire de microbiologie, et tous les autres personnels qui acceptent à nous aider pour la réalisation de ce travail, et qui je n'ai pas cité leurs noms ; soyez certains que vous avez aussi une grande part de ce respect malgré que j'ai oublié de citer vos noms.

Mes remerciements exceptionnels sont pour les personnes exceptionnelles dans ma vie les deux qui ont me servi sans rien dire, m'aide sans rien demander, me donne toute chose que j'ai besoin sans que j'exprime ; le premier est le soleil «papa : **Khacha Abdelkader** » le deuxième est la lune maman « **Khacha Mebarka** », aussi je remercie mes sœurs ; celles qui ont fait ce qu'elles peuvent faire juste pour m'avoir heureuse (**Ahlem, Khadidja** et **Aicha**) ; je veux vous dire que toutes les expressions de remerciement qui existe dans tout les langues ne vous satisfait pas pour vous dire merci

A ma famille qui toujours m'encourage et exprime l'amour et le respect et ne cesse pas à me pousser vers l'avant et m'aider à trouver le bon chemin ; merci.

Mes remerciements à mes amis sans exception, particulièrement ceux qui ont toujours insisté à avoir ce jour; merci en particulier **Kallef Massouda** et **Debbabza Manel**.

Enfin, pour tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

# Sommaire

Liste des figures	
Liste des planches	
Liste des tableaux	
Introduction	
<b>I. Synthèse bibliographique</b>	
I.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01
I.1.1. Définition	01
I.1.2. Classification	01
I.1.3. Habitat	01
I.1.4. Caractères bactériologiques	02
I.1.4.1. caractères morphologiques	02
I.1.4.2. Caractères cultureux	02
I.1.4.3. Facteurs de virulence	04
I.1.5. Physiopathologie	06
I.1.5.1. Pouvoir pathogène de <i>P. aeruginosa</i> pour l'Homme	06
I.1.5.2. Pouvoir pathogène de <i>P. aeruginosa</i> pour les animaux	07
I.2. Antibiotiques	07
I.2.1. Définition	07
I.2.2. Classification des antibiotiques	08
I.2.3. Cibles bactériennes des antibiotiques	08
I.2.4. Effet post antibiotique	09
I.2.5. Aminosides	10
I.2.5.1. Définition des aminosides	10
I.2.5.2. Caractéristique des aminosides	10
I.2.5.3. Effets sur la bactérie	10
I.2.5.4. Caractéristiques de la bactéricidie	11
I.2.5.5. Effet post antibiotique	11
I.2.5.6. Pharmacologie	11
I.2.5.6.1. Spectre d'activité	11
I.2.5.6.2. Pharmacocinétique	12
I.2.5.6.3. Pharmacodynamie	12
I.2.6. Béta-lactamine	13
I.2.6.1. Définition des Béta-lactamine	13
I.2.6. 2. Mécanisme d'action	14
I.3.. Antiseptiques et désinfectants	14
I.3.1. Définition	14
I.3.2. Classification	15
I.3.2.1. Classification selon le spectre d'activité	15
I.3.3. Mode d'action des antiseptiques et des désinfectants	16
I.3.4. Spectre D'activité Théorique	16
I.3.5. Les Critères de choix	16
I.3.6. Toxicité des Antiseptiques	17
I.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques	17
I.4.1. Définition	17
I.4.2. Types de résistance	17
I.4.2.1. Résistance naturelle (Intrinsèque)	18
I.4.2.2. Résistance acquise	18

# Sommaire

I.4.3. Résistance du <i>P. aeruginosa</i>	18
I.4.3.1. Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines	18
I.4.3.1.1. Résistance naturelle aux $\beta$ -lactamines	18
I.4.3.1.2. Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines	19
I.4.3.2. Résistance aux aminosides	21
I.4.3.2.1. Résistance naturelle aux aminosides	21
I.4.3.2.1. Résistance acquis aux aminosides	21
I.5. Résistance bactérienne aux antiseptiques	22
I.5.1. Résistance intrinsèque bactérienne	22
I.5.2. Résistance acquise aux désinfectants et antiseptiques	22
I.6. Conséquences d'une résistance	23
II. Matériels et méthodes	24
II.1. Identification des isolats	24
II.1.1. Identification biochimique classique	24
II.1.1.1. Coloration de Gram	24
II.1.1.2. Recherche de catalase	25
II.1.1.3. Recherche de l'oxydase	25
II.1.1.4. Mise en évidence de pigments spécifiques	26
II.1.2. Identification biochimique par la galerie API 20NE	27
II.2. Purification	27
II.3. Conservation	27
II.3.1. Conservation au froid	27
II.3.2. Conservation par congélation	28
II.4. Etude de l'antibiorésistance	28
II.4.1. Antibiogramme	29
II.4.2. Recherche de pouvoir inhibiteur des antiseptiques	29
II.4.3. Détermination des concentrations inhibitrices de l'eau chlorée	31
II.4.4. Détermination des concentrations inhibitrices des antibiotiques	31
II.4.4.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices	31
II.4.4.2. Détermination de la concentration Minimale Bactéricide	32
II.5. Identification et Antibiogramme Réalisés par l'Automate VITEK 2 <sup>TM</sup> Compacte 15	33
II.6. Recherche de la Bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE)	37
II.6.1. Définition d'une BLSE	37
II.6.2. Méthodes de détection de la BLSE	37
II.7. Recherche de l'effet post antibiotique	38
III. Résultats	40
III.1. Répartition des prélèvements	40
III.1.1. Répartition des prélèvements selon le sexe	40
III.1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge	40
III.1.3. Répartition des prélèvements selon l'origine pathologique	41
III.1.4. Répartition des prélèvements selon les services	41
III.2. Résultats de l'identification	42
III.3. Résultats de l'antibiorésistance	46
III.3.1. Evolution de la résistance aux bêta-lactamines	46
III.3.2. Evolution de la résistance aux aminosides	48
III.3.3. Résultats de l'Antiseptogramme	53
III.3.4. Phénotypes de résistance	56
III.3.5. Résultats de la recherche des BLSE	58

## Sommaire

---

III.3.6. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices	59
III.3.6.1. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices des aminosides	59
III.3.6.2. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices des bêta-lactamines	66
III.3.7. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique	73
V.3.7.1. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'amikacine	73
III.3.7.2. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'imipenème	85
<i>Discussion</i>	96
<i>Conclusion</i>	146
Références bibliographique	151
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Annexe	

---

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Mode d'action des antibiotiques	<b>09</b>
Figure 02	Structures de quelques $\beta$ -lactamines	<b>14</b>
Figure 03	La résistance enzymatique	<b>19</b>
Figure 04	Préparation et standardisation de l'inoculum pour l'Automate VITEK 2 <sup>TM</sup>	<b>34</b>
Figure 05	Placement des cartes d'identification sur la cassette de l'Automate VITEK 2 <sup>TM</sup>	<b>35</b>
Figure 06	Lancement de remplissage de l'Automate VITEK 2 <sup>TM</sup>	<b>36</b>
Figure 07	Répartition des prélèvements selon le sexe	<b>40</b>
Figure 08	Répartition des prélèvements selon l'âge	<b>41</b>
Figure 09	Répartition des prélèvements selon l'origine	<b>42</b>
Figure 10	Répartition des prélèvements selon les services.	<b>42</b>
Figure 11	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2011)	<b>46</b>
Figure 12	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2012)	<b>47</b>
Figure 13	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2013)	<b>47</b>
Figure 14	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2016)	<b>48</b>
Figure 15	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2011)	<b>49</b>
Figure 16	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2012)	<b>49</b>
Figure 17	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2013)	<b>49</b>
Figure 18	Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des aminosides (2016)	<b>50</b>
Figure 19	Résultats des profils des sensibilités aux antibiotiques de la totalité des souches collectées entre 2011-2013.	<b>51</b>
Figure 20	Résultats des profils de sensibilité aux beta- lactamines (2011-2013)	<b>51</b>
Figure 21	Résultats des profils de sensibilité aux aminosides	<b>51</b>
Figure 22	Résultats des profils de sensibilité des souches testées aux différentes concentrations de l'eau chlorée	<b>55</b>
Figure 23	Résultats de confirmation de l'inhibition par l'eau chlorée sur milieu solide	<b>55</b>
Figure 24	Profils de sensibilité des souches choisies pour la recherche des BLSE	<b>59</b>
Figure 25	Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S16513	<b>74</b>
Figure 26	Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S1014	<b>76</b>
Figure 27	Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S 1114	<b>79</b>
Figure 28	Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S914	<b>81</b>
Figure 29	Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S214	<b>83</b>
Figure 30	Effet post antibiotique de l'imipenème vis à vis la souche S16513	<b>86</b>
Figure 31	Effet post antibiotique de l'imipenème vis à vis la souche S 1014	<b>89</b>
Figure 32	Effet post antibiotique de l'imipenème vis à vis la souche S214	<b>93</b>
Figure 33	Effet post antibiotique de l'imipenème vis à vis la souche S1114	<b>94</b>

---

## Liste des planches

Numéro	Titre	page
<b>Planche 01</b>	Quelques photos de l'antibiogramme de quelques souches testées	<b>52</b>
<b>Planche 02</b>	Quelques photos de l'antiseptogramme de quelques souches	<b>54</b>
<b>Planche 03</b>	Quelques photos des résultats des profils de sensibilité à l'eau chlorée pour des souches sensibles aux antibiotiques testées	<b>56</b>

## Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
Tableau 01	Répartition des prélèvements selon le sexe	<b>Annexe 1</b>
Tableau 02	Répartition des prélèvements selon l'âge et le sexe	<b>Annexe 1</b>
Tableau 03	Répartition des prélèvements selon les l'origine pathologique	<b>Annexe 1</b>
Tableau 04	Répartition des prélèvements selon les services	<b>Annexe 1</b>
Tableau 05	Tableau de lecture de l'Api 20NE (BioMérieux SA)	<b>Annexe 2</b>
Tableau 06	Tableau d'identification de l'Api 20NE	<b>Annexe 2</b>
Tableau 07	Listes des antibiotiques testés avec objectif d'utilisation	<b>Annexe 3</b>
Tableau 08	<b>Aspects des colonies de quelques souches isolées sur différents milieux.</b>	<b>43</b>
Tableau 09	<b>Aspects des colonies de quelques souches testées sur gélose nutritive</b>	<b>44</b>
Tableau 10	Résultats de détermination des profils d'assimilation de quelques substrats (galerie Api20NE) par quelques souches.	<b>45</b>
Tableau 11	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2011	<b>Annexe 4</b>
Tableau 12	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2012	<b>Annexe 4</b>
Tableau 13	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2013	<b>Annexe 4</b>
Tableau 14	Résultats de l'antibiogramme des souches résistantes collectées en 2016	<b>Annexe 4</b>
Tableau 15	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des aminosides de l'année 2011	<b>Annexe 4</b>
Tableau 16	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des aminosides de l'année 2012	<b>Annexe 4</b>
Tableau 17	Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2013	<b>Annexe 4</b>
Tableau 18	Résultats de l'antibiogramme des souches résistantes collectées en 2014	<b>Annexe 4</b>
Tableau 19	Phénotype de résistance des souches collectées de <i>P. aeruginosa</i> aux $\beta$ -lactamines	<b>57</b>
Tableau 20	Phénotypes de résistance de <i>P. aeruginosa</i> aux $\beta$ -lactamines	<b>Annexe 5</b>
Tableau 21	Phénotype de résistance des souches collectées de <i>P. aeruginosa</i> aux aminosides	<b>58</b>
Tableau 22	Phénotypes de résistance de <i>P. aeruginosa</i> aux aminosides	<b>Annexe 5</b>

---

Tableau 23	Antibiogramme des souches choisies en 2011 pour la détermination des CMI et CMB	<b>Annexe 6</b>
Tableau 24	Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2011	<b>60</b>
Tableau 25	Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2012	<b>61</b>
Tableau 26	Antibiogramme des souches choisies en 2012 pour la détermination des CMI et CMB	<b>Annexe 6</b>
Tableau 27	Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2013	<b>63</b>
Tableau 28	Antibiogramme des souches choisies en 2013 pour la détermination des CMI et CMB	<b>Annexe 6</b>
Tableau 29	Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2014	<b>64</b>
Tableau 30	Concentrations inhibitrices des aminosides des souches isolées en 2016 (résultats du VITEK)	<b>65</b>
Tableau 31	Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches choisies en 2016	<b>66</b>
Tableau 32	Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches isolées en 2011	<b>67</b>
Tableau 33	Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches isolées en 2012	<b>68</b>
Tableau 34	Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches choisies en 2013	<b>70</b>
Tableau 35	Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches choisies en 2014	<b>71</b>
Tableau 36	concentrations inhibitrices bêtalactamines des souches isolées en 2016 (Résultats de VITEK)	<b>72</b>
Tableau 37	Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches choisies en 2016	<b>72</b>
Tableau 38	Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'amikacine	<b>84</b>
Tableau 39	Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'imipénème	<b>95</b>

## Liste des abréviations

- **µl** : microlitre.
- **AAC** : AminoAcétyltransférases.
- **ADN** : **Acide DésoxyRibonucléique**
- **AER** : **Annual Epidemiological Reports.**
- **ANT** : nucléotidyltransférases.
- **ANT** : nucléotidyltransférases.
- **APH** : phosphotransférases.
- **API 20NE** : Analytical profile index 20 non-Enterobacteriaceae.
- **ARNr** : Acide RiboNucléique Ribosomal.
- **BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargi.
- **BMR** : bactéries multirésistantes.
- **CAPP-INFO** : Contact Avis Pharmacologique et Pharmaceutique.
- **CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
  
- **CCLIN** : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales.
- **CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute.
- **CMB** : concentrations minimales bactéricides.
- **CMI** : concentrations minimales inhibitrices.
- **CSHPF-CTIN** : Conseil supérieur d'hygiène publique de France- Comité technique des infections nosocomiales.
- **EARSS** : European Antimicrobial Resistance Surveillance.
- **ENP** : Enquête nationale de prévalence.
- **EPA** : Effet post antibiotique.
- **h** : heure.
- **I** : intermédiaire.
- **INVS** : Institut National de veille Sanitaire.
- **LPS** : lipopolysaccarides.
- **Min** : minute.
- **NNIS** : National Nosocomial Infections Surveillance system.
- **OMS** : Organisation Mondial de Santé.

## Liste des abréviations

---

- **ONEBRA** : l'ONERBA (*Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques*).
- **PBP** : Penicillin-Binding Proteins.
- **PC** : Petit Computer.
- **R** : Résistant.
- **S** : Sensible.
- **T10CMI** : Témoin Concentrations Minimales Inhibitrices X10
- **TCMB** : Témoin Concentrations Minimales Bactéricides
- **TCMI** : Témoin Concentrations Minimales Inhibitrices.
- **USI** : Unité des Soins Intensifs.

# INTRODUCTION

### Introduction

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale (**Ben Romdhane et al., 2007**). Au fur et à mesure de la découverte de nouveaux antibiotiques, les bactéries ont progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes de multirésistance (**Mainardi et al., 1996 ; Lucet, 1998**). L'émergence et la diffusion des résistances aux antibiotiques représentent une réelle menace pour la santé publique à l'échelle mondiale (**Rossolini et al., 2008 ; Ouedraogo et al., 2017**). Les données récentes de la bibliographie abondent de descriptions de bactéries multirésistantes voire totorésistantes aux antibiotiques dont le nombre ne cesse de croître aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (**Rossolini et al., 2008 ; Ouedraogo et al., 2017**). L'antibiorésistance progresse de manière inquiétante dans le monde entier et concomitamment, aucun antibiotique avec un nouveau mécanisme d'action n'a été développé depuis plus de vingt ans. Cette double réalité place désormais les sociétés modernes dans une situation de grande fragilité (**Laxminarayan, 2014 ; Laxminarayan et al., 2015**). Diverses organisations internationales et nationales rappellent depuis des années avec une pression grandissante que le développement de la résistance bactérienne finira par nous dépasser. Lors du Forum économique mondial (*World Economic Forum*) en 2013 à Davos, le développement de la résistance a été jugé comme le plus grand risque sanitaire actuel pour l'homme (**Spellberg et al., 2013**). Même au sein des commissions politiques de différents pays, une attention grandissante est prêtée à ce sujet. La problématique est désormais réelle. Ainsi, plusieurs auteurs ont tiré la sonnette d'alarme face à l'imminence de l'ère "post-antibiotique" (**Barclay et al., 1996**). Ce qui montre qu'aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antibiotiques (antibiorésistance) est un grave problème de santé publique mondial qui progresse très rapidement. Malgré la mobilisation de l'Organisation Mondiale de Santé, le nombre de victimes (mortalité, morbidité) ne cesse d'augmenter, avec des prévisions de plus en plus pessimistes (**OMS, 2015 ; Mangin, 2016 ; OMS, 2018a ; OMS, 2018b**).

Pour concourir à l'expansion des phénomènes de résistance que nous connaissons. Certes, des résultats positifs ont été obtenus concernant les résistances des bactéries à Gram positif, grâce à des mesures de prévention (vaccination, progrès en hygiène hospitalière). Cependant, l'expansion des résistances aux bêta-lactamines chez les bacilles à Gram négatif, entérobactéries et *Pseudomonas*, particulièrement, liée à l'émergence et à la diffusion de mécanismes de résistance touchant un spectre de plus en plus large d'antibiotiques, est très préoccupante (**Brun-Buisson, 2016**). L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (bacille

pyocyanique) est une bactérie opportuniste, capable de s'adapter à de nombreux environnements. (Jeannot et Plesiat, 2005; Navon-Venezia et al., 2005). Elle est capable de survivre dans l'environnement particulièrement en milieu humide (eaux, surface, air, aliments), En milieu hospitalier elle peut être rencontrée dans l'environnement proche du malade. Elle peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée (Ashdown, 1997). Cette bactérie est impliquée dans les infections communautaires (Berdyev et al., 2011) et dans les infections nosocomiales (Beaucaire, 2000 ; Mérens et al., 2013, Ouedraogo, 2016). Il est possible de l'isoler dans la plupart des prélèvements effectués chez l'homme et dans les prélèvements de l'environnement (Trautmann et al., 2005). Elle se distingue des autres espèces par sa pathogénicité relativement importante à l'égard des sujets immunodéprimés et sa résistance croisée à de nombreux antibiotiques de différentes familles (Jeannot et Plesiat, 2005; Navon-Venezia et al., 2005). La gravité et la surmortalité observées au cours des infections liées au bacille pyocyanique sont dues à ses propriétés intrinsèques, à sa capacité d'adaptation entre autre à sa capacité d'acquérir de nombreux mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques et antiseptiques (Trautmann et al., 2005). Le fait le plus inquiétant de ces dernières années est le signalement de plus en plus fréquent de souches de *P. aeruginosa* résistantes à un nombre croissant d'antibiotiques et même dans certains cas de souches totalement résistantes à l'ensemble des molécules disponibles. Cette espèce est le deuxième pathogène plus fréquent retrouvé dans les USI (unité des soins intensifs) aux Etats-Unis, et le deuxième impliqué dans les pneumonies nosocomiales et les infections de la peau et des tissus mous. Ce pathogène arrive en troisième ligne des bactéries isolées d'infection nosocomiale avec une fréquence de 12.5% en Algérie (Amazian et al., 2010), de 8.4%-10% entre 2010 (Bertrand et al., 2011) et 2012 (ENP, 2012) en France. En 2003, Aux Etats Unis, une augmentation de la résistance a été observée, par rapport à la période 1999-2002. Elle est de 20% pour la résistance aux C3G, pipéracilline, ticarcilline et de 15% pour la résistance à l'imipénème. Près de 30% des souches isolées sont résistantes à au moins quatre antibiotiques, incluant ceftazidime, imipénème, gentamicine, ciprofloxacine et lévofloxacine (NNIS, 2004).

En Europe, l'évolution est assez similaire. Ainsi, certains pays ont un taux de résistance supérieur ou égal à 25% : République Tchèque 33%, Grèce 40%, Italie 25%. Pour les carbapénèmes, l'analyse est plus compliquée, tous les pays différant dans leurs pratiques de routine. La plupart des pays rapportent une résistance aux carbapénèmes supérieure à 10%, avec des taux allant jusqu'à 47% en Grèce (EARSS, 2007). En 2018 *Pseudomonas*

*aeruginosa* représentent la moitié des micro-organismes isolés des infections nosocomiales (**Santé publique France, 2018**). Cette bactérie constitue, ainsi, un pathogène «à problème », où très peu de nouvelles molécules sont mises sur le marché par l'industrie pharmaceutique. Les aminosides et les bêta- lactamines sont des antibiotiques précieux dans le traitement des infections sévères à *Pseudomonas aeruginosa* (**Barclay et al., 1996**). Les  $\beta$ -lactamines, sont utilisés pour le traitement d'environ 55 % de toutes les infections bactériennes, en raison de leur grande efficacité et au peu d'effets secondaires qui leur sont attribués (**Matagne et al., 1999**).

En France, les infections à *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes représentent un quart des infections et plus de la moitié des décès liés aux bactéries multirésistantes. Ce qui confirme cependant le besoin de renforcer de façon durable la mobilisation autour de la problématique de la résistance bactérienne aux antibiotiques. En plus, leur efficacité *in vivo* peut être compromise par l'apparition de sous-populations transitoirement résistantes (**Barclay et al., 1996**). L'émergence et la diffusion de nouveaux mutants de *P. aeruginosa* de plus en plus résistants chez les patients en cours de traitement sont des facteurs pouvant conduire à l'échec thérapeutique. Pour faire face à ce défi, les établissements de santé doivent mettre en place des stratégies de surveillance et de contrôle (**Cholley, 2010**). La surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques est un élément fondamental du combat pour lequel le monde entier doit se mobiliser. Afin de maîtriser ce phénomène, il importe que chacun dispose des connaissances actualisées sur les résistances bactériennes. La surveillance des résistances bactériennes permet d'éclairer les professionnels et autorités de santé sur les actions à mener au regard des évolutions observées, les données de pharmacovigilance complètent cette analyse. Ce qui montre que c'est sur la surveillance de la résistance aux antimicrobiens (RAM) que reposent fondamentalement l'évaluation de la charge de RAM et la fourniture des informations permettant d'étayer les actions à l'appui des stratégies locales, nationales et mondiales (**Carlet et Shlemmer, 2015**).

Les industriels font face à une situation paradoxale : les antibiotiques sont des produits de haute technologie mais leur prix est peu élevé et leur utilisation doit être limitée. Aujourd'hui, investir dans l'innovation antibactérienne n'est plus rentable. Il est donc nécessaire de trouver un nouveau modèle médico-économique permettant un retour sur investissement suffisant, afin d'encourager à nouveau l'investissement dans le développement de nouveaux produits luttant contre l'antibiorésistance (**Carlet et Shlemmer, 2015**). Le profil de résistance des principales bactéries isolées dans les prélèvements à but diagnostique par le laboratoire de

microbiologie, est une information rapportant aux actions mises en place pour la surveillance de la consommation d'antibiotiques au sein des établissements de santé (CCLIN Sud-Ouest, 2016 ; Réseau ATB-Raisin, 2017). Dans le plan d'alerte sur les antibiotiques 2011-2016, les données de résistances sont, elles, présentées en pourcentage de bactéries résistantes par rapport au nombre de bactéries isolées. *P. aeruginosa* est parmi les bactéries concernées par ce suivi. En outre, afin de lutter contre l'émergence des bactéries productrices de BLSE et de carbapénèmases, une surveillance particulière de la prescription des carbapénèmes a été mise en place (Le Quellec, 2015).

Donc, il est nécessaire d'effectuer des études liées à l'activité et à l'efficacité, en particulier pour les souches résistantes de *P. aeruginosa*. Ce qui peut ajouter une valeur d'option basée sur un diagnostic microbiologique approfondi dans des cas spécifiques aux infections à pseudomonas résistantes aux médicaments.

Sur la base de cette situation on a essayé de contribuer à la surveillance des souches résistantes de cette espèce. Notre étude qui a été réalisé au niveau de laboratoire de Microbiologie de l'Université de Souk Ahras de Mohamed Cherif Messaadia et au niveau de laboratoire de recherche des écosystèmes aquatique et terrestres, a porté sur:

- Détermination des profils de sensibilité des souches bactériennes de *P. aeruginosa* isolées de différentes origines vis-à-vis des antibiotiques (bêta lactamines et aminosides).
- Détermination de l'efficacité des antiseptiques fréquemment utilisés.
- Recherche des concentrations efficaces de désinfectant le plus utilisé (eau chlorée) pour le nettoyage des locaux.
- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides CMB) de quelques aminosides et bêta lactamines.
- Recherche de l'effet post antibiotique de l'imipenème et de l'amikacine.

**SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

# I. Synthèse bibliographique

## I.1. *Pseudomonas aeruginosa*

### I.1. Définition

Le mot pseudomonas est issu du grec *pseudo* (= « simili » ou « imitation ») et *monas* (=« unité ») désigner les « germes » et *aeruginosa* signifie vert- de- gris en latin. Il fait référence au pigment contenu par la bactérie, qui donne à la colonie sa couleur caractéristique (Yétérián, 2010). Du latin *aeruginosus* signifie aussi «couvert de rouille». *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) est plus connue sous le nom bacille pyocyanique ( Eyquem et al, 2000 ) ; du grec *puon* = pus et *kuanos* = bleu foncé (Berche et al., 1988; Marc et al.,1999). Cette bactérie a été isolée pour la première fois en 1882 par Charles Gessard. Ce pharmacien militaire, intrigué par la "coloration azurée des plaies purulentes", identifie le responsable de l'infection : *Bacillus pyocyaneus* Gessard Flügge (Bernet et al., 2009).

### I.1.2. Classification

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif appartenant au règne *Bacteria*, embranchement *Prokaryota*, division *Proteobacteria*, classe *Gammaproteobacteria*, Ordre *Pseudomonadales*, et à la famille des *Pseudomonadaceae* qui inclut dix genres.

*Pseudomonas* est le genre le plus important. Il regroupe 7 espèces : *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. pertucinogena*, *P. putida*, *P. stutzeri* et *P. syringae*. *P. aeruginosa* dont elle est l'espèce type de ce genre (Ruiz et al., 2004).

### I.1.3. Habitat

*P. aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire (Gellen-Dautremer, 2007). Elle est largement répandue dans la nature, dans les sites naturels humides : eau, sols et végétaux (Jean, 2004). Elle est sensible à la dessiccation (Gellen-Dautremer, 2007).

Elle peut se trouver dans l'environnement comme suit :

\* Eaux : *P. aeruginosa* se rencontre dans de nombreux échantillons d'eau : eaux de rivière, eaux usées, eaux de piscine (défaillance dans le système de chloration) et eaux marines. On le retrouve même dans les eaux minérales, eaux thermales, eaux de boissons (Briand, 1992).

\* Végétaux : *P. aeruginosa* peut se trouver dans les légumes frais, les salades, les fruits, les aliments et les fleurs, ce qui explique que ces dernières sont interdites dans les

services de réanimation (**Briand, 1992**).

\* Environnement hospitalier : *P. aeruginosa* est une bactérie très fréquente en milieu hospitalier (**Ferron, 1990**). Elle peut être apportée par le matériel chirurgical, médical, infirmier... On le trouve aussi dans les endroits humides : siphons de lavabos, savons liquides, humidificateurs, solutions d'antiseptiques (ammoniums quaternaires), solutions pour nettoyer les lentilles de contact. Il faut savoir que 10.8 % des patients non colonisés initialement vont acquérir cette bactérie après hospitalisation (**Briand, 1992**).

\* Homme : C'est une bactérie indépendante de l'homme mais elle peut être commensale du tube digestif (**Cholley, 2010**) ; le portage intestinal est normalement faible, il est de 4 %. Elle est isolée chez l'homme d'une grande quantité de prélèvements pathologiques : expectorations, urines, pus d'origines diverses (ORL, articulation, vaginal, pleural), selles, sang, on le trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la salive. Une phase de colonisation plus ou moins longue précède le plus souvent l'infection (**Briand, 1992**).

### I.1.4. Caractères bactériologiques

#### I.1.4.1. caractères morphologiques

*P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif non sporulé, en forme de bâtonnet de forme droite ou légèrement courbée de 0.5 à 0.8µm de diamètres et d'une longueur de 1.5 à 3 µm. Pratiquement toutes les souches sont mobiles grâce à un flagelle polaire (monotriche) (**Yétérien, 2010**). Le halo réfringent (**Gellen-Dautremer, 2007**), qui par fois entoure le corps bactérien, ne traduit pas la présence d'une capsule mais celle d'un produit muqueux extracellulaire (alginate) élaboré par certaines souches constituant une pseudocapsule (**Ferron, 1990**). La paroi bactérienne de *P. aeruginosa* est typique des bactéries à Gram négatif, composée d'une grande variété de molécules aux fonctions multiples (**Carmeli et al., 1999**). La membrane externe de la paroi est formée de LPS et de phospholipides, où s'insèrent de nombreuses protéines intrinsèques. Parmi elles, les porines, protéines transmembranaires formant des pores ou canaux protéiques permettant le passage de petits solutés et de molécules hydrophiles (**Diggle et al., 2006**).

La membrane plasmique contient de nombreux complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien (**Finnen et al., 1992**).

### I.1.4.2. Caractères cultureux

Le bacille pyocyanique est une bactérie aérobie stricte, se développant sur les milieux usuels. Elle est mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4- 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C, mais les souches d'origine humaine, réputées pathogènes, peuvent supporter des températures de 41°C, contrairement aux souches de l'environnement (**Faure et al., 2004**).

*P. aeruginosa* produit deux pigments qui confèrent aux cultures une teinte caractéristique à l'origine du qualificatif de pyocyanique (bacille du « pus bleu ») : la pyocyanine, bleu vert, et la pyoverdine, jaune vert et fluorescent (**Marie et al., 2000**). Certaines souches sont apigmentaires, d'autres, plus rares sont érythrogènes (production d'un pigment rouge pour 1 % des souches) ou mélanogènes (pigment brun foncé, presque noir pour 1 à 2 % des souches). La culture sur gélose donne une odeur caractéristique (acacia ou seringa) (**Briand, 1992**).

Comme pour toute bactérie ; l'identification de *P. aeruginosa* est initié par une caractérisation macroscopiques de l'aspect des colonies puis par les examens microscopiques et enfin biochimiques. L'aspect des colonies est important dans le diagnostic de l'espèce de *P. aeruginosa* (**Beraud, 2011 ; Solbi, 2013 ; Dermoun, 2014**). Les colonies de cette bactérie ont une couleur à tendance fluorescente (**Flandrois, 1997**), avec production pigment bleu-vert (**Oulymata, 2007**) et dégagent une odeur florale (**Flandrois, 1997**) caractéristique (acacia ou seringa) (**Oulymata, 2007**). Elles peuvent être :

\* **des colonies la** (large) : sont grandes, rugueuses avec un centre plus bombé, colonies en oeufs sur le plat, **FE** (Fried Eggs) et un bord irrégulier. Très souvent, les colonies *la* présentent de petites plages d'autolyse donnant un reflet irisé ou métallique (**Oulymata, 2007**) ou, les plus fréquentes, d'un diamètre moyen à contour irrégulier, d'aspect rough (rugueux), plus virulentes que les colonies lisses.

\* des Colonies petites ou **Sm** (Small), rondes, lisses, légèrement bombées (convexes) avec un bord circulaire régulier.

\* Colonies muqueuses, voire très muqueuses ou **M**, ces colonies se rencontrent presque spécifiquement dans des infections chroniques, urinaires ou pulmonaires (mucoviscidose) (**Olvera et al., 1999**). Elles sont bombées, opaques, visqueuses, filantes, ou parfois coulantes (**Gellen-Dautremer, 2007**). Les cultures productrices d'alginate donnent des colonies très muqueuses (**Ferron, 1990**).

Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, soit aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. *P. aeruginosa* est une bactérie motile grâce à la présence d'un flagelle monotriche 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 (Faure et al., 2004).

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif ; il est utilisé pour l'isolement sélectif et identification de *P. aeruginosa* (Pigasse, 2017). Il est utilisé afin d'isoler *P. aeruginosa* à partir de prélèvements pluri microbiens (Ruiz et al., 2004). Ce milieu favorise la production de pigments par *P. aeruginosa* (pyoverdine et pyocyanine) (Pigasse, 2017).

### I.1.4.3. Facteurs de virulence

*P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste capable d'infecter un large spectre d'hôtes. Elle possède un vaste arsenal de facteurs de virulence (Chaker, 2012). Les facteurs de virulence ne sont pas synthétisés de manière constitutive et la majorité d'entre eux sont produits en phase tardive de croissance ou dans des conditions de carences (carence en fer, en phosphate). En effet cette bactérie saprophyte, lors de l'établissement de l'infection, s'adapte rapidement au nouvel environnement que représente le malade et synthétise de nouveaux facteurs de virulence afin de réussir son processus infectieux. Ces facteurs de virulence peuvent être classés en trois types :

#### a. Les structures et composants pariétaux, les métabolites divers :

\* Le lipopolysaccharide (LPS) : La virulence liée au LPS dépend essentiellement de l'état du polysaccharide (s'il est complet, la souche est virulente) et non de sa nature (pas de différence de virulence suivant le sérotype) (Briand, 1992; Goldberg et Pier, 1996).

\* Les pili : L'évènement initial dans l'infection est l'adhésion de la bactérie de type rugueux aux cellules épithéliales des muqueuses grâce aux pili (Lazdunski, 1998). Les souches piliées sont à l'origine d'une plus grande mortalité que les souches ne possédant pas de pili (Tang et al., 1995).

\* Le flagelle : Le flagelle est essentiel pour assurer la mobilité, mais il joue vraisemblablement un rôle indirect dans l'adhésion cellulaire. Son importance dans la pathogénèse semble établie. En effet des bactéries mutantes, sans flagelles, étaient moins invasives que la souche mobile. Cependant, le flagelle est aussi connu pour avoir des propriétés hautement immunologiques, et servirait de ligand aux macrophages et aux

polynucléaires (**Feldman et al., 1998**).

\* L'alginate : Une capsule visqueuse, composée majoritairement d'alginate et d'un autre expopolysaccharide entoure *P. aeruginosa* et lui permet de se protéger de l'action non spécifique des cellules phagocytaires, de la déshydratation et des antibiotiques (**Monday et Sciller, 1996**).

\* L'exoenzyme S (ExoS) est cytolytique , elle semble localisée sur la membrane externe de la bactérie où elle peut fonctionner comme une adhésine et favoriserait donc la colonisation (**Briand, 1991**).

\* La cytotoxine est une protéine située dans le périplasme. Elle peut agir directement sur les leucocytes. Elle cause la formation de pores dans les membranes cellulaires, ce qui augmente la perméabilité et libération des enzymes lysosomiales. Ces altérations conduisent à une inflammation sévère des tissus et à leur nécrose.

\* La phospholipase C (PLC) est une hémolysine thermolabile, synthétisée dans des conditions de carence en phosphate. La phospholipase C est à l'origine de dommages tissulaires des poumons lors de leur infection (**Berka et al., 1981**). Elle lyse aussi les érythrocytes.

\*Les rhamnolipides sont des glycolipides thermostables, qui peuvent émulsionner les phosphates membranaires grâce à leur activité détergente. Ce sont des composés cytotoxiques. Ils inactivent la mobilité des cils vibratiles trachéaux ciliaires, perturbent le transport des ions dans les cellules épithéliales respiratoires et augmentent la libération de mucine *in vitro*.

\*L'élastase est une des quatre protéases majoritaires. Elle joue un rôle important dans la pathogénèse en provoquant des hémorragies et des nécroses tissulaires (**Azghani, 1996** ).

### b. Pigments

La pigmentation des souches permet d'orienter le diagnostic, en effet 90 % des *Pseudomonas* sont pigmentés.

\* Les pigments phénaziniques pourraient être responsables de l'action pathogène de *P. aeruginosa* (**Abdallah et al., 1991**)

\* La pyocyanine (ou hydroxyl-1-méthyl-5-phénazine), perturbe certains mécanismes cellulaires. Cette substance exerce une action cytostatique vis-à-vis de cultures de lymphocytes *in vitro*. Elle inhibe la blastogénèse des lymphocytes après stimulation par des substances mitogènes ainsi que la synthèse de l'interleukine-2 et l'expression de son récepteur (**Briand, 1992**).

### c. Biofilm

En réponse à certaines conditions extérieures hostiles à leur développement, constituant ainsi un biofilm rendant les bactéries inaccessibles à la phagocytose, aux anticorps, aux désinfectants et aux antibiotiques (Gellen-Dautremer, 2007). Ces derniers forment une barrière physique contre l'entrée d'agents antimicrobiens (O'Toole et al., 1999 ; Costerton, 2001) . Le biofilm conduit à des modifications drastiques du comportement cellulaire, avec modification des fonctions métaboliques et de l'expression de facteurs de virulence, ainsi qu'une sensibilité diminuée aux moyens de défense naturels ou non de l'hôte (Davey, 2000).

#### I.1.5. Physiopathologie

*P. aeruginosa* peut atteindre des sujets en bonne santé, après inoculation directe accidentelle (ostéomyélites ou méningites d'inoculation) ou infestation massive (Ingestion massive d'aliments contaminés contact avec les eaux fortement polluées). Cependant, c'est surtout une bactérie opportuniste responsable d'une pathologie nosocomiale chez l'immunodéprimé.

Les bactéries sont sélectionnées sur le revêtement cutané-muqueux par une antibiothérapie qui détruit la flore endogène antagoniste et permet la prolifération de *P. aeruginosa*.

L'implantation initiale est favorisée par des lésions telles que traumatismes ou brûlures, qui détruisent les défenses des barrières naturelles. Une fois implantées, les bactéries se propagent d'autant plus facilement que les défenses immunitaires sont amoindries ou inexistantes.

L'infection s'étend localement avec une tendance nécrotique hémorragique particulière la dissémination hématogène est liée en partie à un tropisme des bactéries pour les artérioles et les petits vaisseaux sanguins cutané-muqueux. Les bactéries dans le sang peuvent essaimer vers n'importe quel tissu ou organe : peau, système nerveux, os, articulation, rate, foie, rein (Lazdunski, 1998). Dans le cadre des infections opportunistes, et notamment pour *P. aeruginosa*, l'adhésion et secondairement la colonisation constituent des étapes clés précédant l'infection (O'Toole et al., 2000).

##### I.1.5.1. Pouvoir pathogène de *P. aeruginosa* pour l'Homme

Chez l'homme en bonne santé, on trouve assez peu de *P. aeruginosa* (de 2 à 10 % de porteurs selon les sites de l'organisme) tandis que chez les hospitalisés ce taux peut atteindre 50 % sur certains sites et 60 % sur les plaies de brûlures et d'escarres. *P. aeruginosa* présente la particularité d'être peu virulent chez les individus sains mais au contraire très pathogène chez les sujets immunodéprimés qui présentent une pathologie déjà existante (leucémies, cancers,

grands brûlés et les sujets atteints de mucoviscidose) ; 20% des infections nosocomiales sont dues à *P. aeruginosa*, alors qu'on ne le retrouve que dans 3.3 % des infections communautaires (Halley, 1997).

La contamination peut avoir deux origines ; endogène (flore fécale : pullulation de *P. aeruginosa* dans le tube digestif à la suite d'un traitement antibiotique inadapté, qui sélectionne des bactéries résistantes par pression de sélection) ou exogène (eaux de boissons, de lavages, solutions antiseptiques contaminées, cathéters, perfusions intraveineuses) (Pennington, 1988 ; Cardenosa, 1999).

Le pouvoir pathogène de *P. aeruginosa* est directement liée à la production par la bactérie de nombreux facteurs de virulence extracellulaires (Halley, 1997).

*P. aeruginosa* est responsable aussi de méningites, d'infections ostéo-articulaires, d'infections uro-génitales, d'infections digestives et de diverses suppurations (Carpentier et al., 2003).

### I.1.5.2. Pouvoir pathogène de *P. aeruginosa* pour les animaux

*P. aeruginosa* est responsable d'infections très diverses tel que les surinfections des plaies (nombreuses espèces) , les infections génitales et avortements (chevaux, bovins) et des mammites (bovins, ovins, chèvres) infections respiratoires, pneumonies (chiens, chats, bovins, ovins, chevaux, porcs, visons, Chinchillas, oiseaux, reptiles) et peu provoqué des entérites (bovins, rongeurs de laboratoire) et les stomatites (reptiles) ...etc (Carpentier et al., 2003).

## I.2. Antibiotiques

### I.2.1. Définition:

Selon la définition donnée par Waksman, en 1941, un antibiotique est une substance produite par un micro-organisme et qui a le pouvoir d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes et même de les détruire (Patrice et al, 2017). En 1957 Turpin et Velu ont défini un antibiotique comme étant tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certains êtres pluricellulaires (Guezlane-Tebibel et al ., 2010 ; INVS, 2016).

Actuellement, les antibiotiques (ATB) sont donc des molécules naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques dont les caractéristiques chimiques sont clairement élucidées et dont on peut

attendre une action pharmacologique au niveau des tissus cibles (**Lechat et al., 1982 ; Pechère, 1992**). Ils sont capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes) (**Flamm et al., 2002**). Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes (**Eggimann et al., 2006**).

### I.2.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique**: très variable, elle est basée souvent sur une structure de base ; sur laquelle il y a hémi synthèse. Cette classification permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.)(**Carbonnelle et al., 1987**).

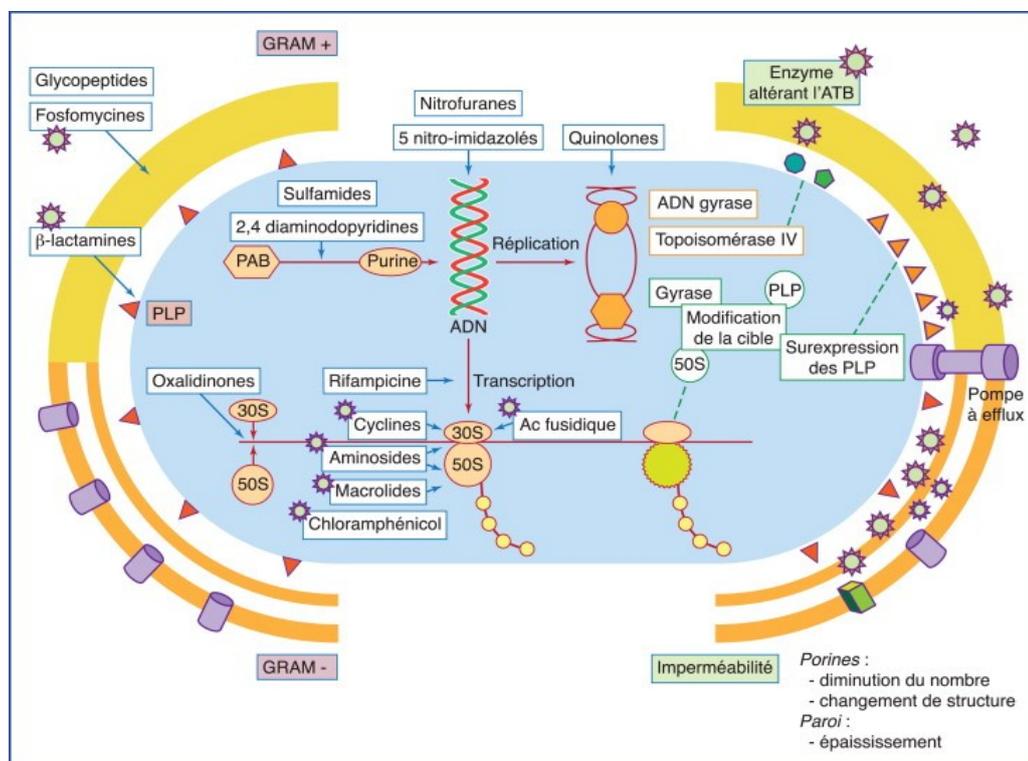
### I.2.3. Cibles bactériennes des antibiotiques

Dans la chimio-thérapeutique anti-infectieuse et antiparasitaire, l'action sur les micro-organismes dérive de mécanisme propre aux diverses classes de molécules actives. Donc le mode d'affectation de la croissance bactérienne est varié selon la nature de l'antibiotique (**Lechat et al., 1982 ; Pechère, 1992**).

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (Figure 01). Le mécanisme d'action des antibiotiques n'est pas toujours parfaitement élucidé mais ils agissent par :

- Toxicité sélective au niveau de la : synthèse de la paroi bactérienne, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, acides nucléiques (**Gaudy et Buxraud, 2005**)
- Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie.

Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en 5 groupes, en fonction de leur cible pharmacologique (Eggimann *et al.*, 2006).



**Figure 01:** Mode d'action des antibiotiques (Chaussade *et al.*, 2013)

### I.2.4. Effet post antibiotique

L'action de certains antibiotiques sur la croissance bactérienne peut se prolonger au delà du temps pendant lequel leur concentration demeure supérieure à la CMI ; c'est l'effet post-antibiotique. Cet effet est variable selon le microorganisme en cause, l'antibiotique utilisé, sa concentration et le temps d'exposition. Il est observé pour les antibiotiques dont le mode d'action implique une altération irréversible ou lentement réversible du métabolisme bactérien. Par exemple, les aminoglycosides qui inhibent la synthèse protéique exercent un effet post-antibiotique important vis-à-vis des bactéries qui ne sont pas tuées pendant le délai d'exposition (la durée de cet effet est proportionnelle à la concentration à laquelle ont été exposées les bactéries). Au contraire, les  $\beta$ -lactames n'exercent pas d'effet post-antibiotique car la synthèse de la paroi, et donc la croissance bactérienne, reprennent dès que l'antibiotique n'est plus lié aux précurseurs du peptidoglycane (Chastre *et al.*, 2003).

### I.2.5. Aminositides

#### I.2.5.1. Définition des aminositides

Les aminositides sont des hétérosides comprenant : un noyau central non sucré dit génine ou aglycone ; dérivé de l' amino-cyclitol (polyols cycliques) à 6 chaînons comportant des groupements basiques (amines, guanidines), un ou plusieurs oses dont des aminosucres (osamines) :2 hexoses (ou exceptionnellement 3 pour la néomycine) et des sucres aminés liés par un pont glycosidique au noyau central(**Daikos et al., 1990**).

#### I.2.5.2. Caractéristiques des aminositides

Les aminositides constituent une famille d'antibiotiques actifs sur certains types de bactéries. Ils comprennent l'amikacine, la gentamicine, la kanamycine, la néomycine, la nétilmicine, la paromomycine, la streptomycine (le plus connu, découvert par Selman Waksman), et la tobramycine (**Daikos et al., 1990**).

Les aminositides sont des antibiotiques bactéricides concentration-dépendante. Leur administration se fait soit en multidoses (toutes les 8 heures ou toutes les 12 heures) soit en monodose sur 24 heures. La prescription de la dose totale journalière en une seule injection a été mise en place ces dernières années et est de plus en plus pratiquée (**Buijk et al., 2002 ; Aiken et al., 2002**).

Tous les aminositides gardent néanmoins une néphrotoxicité potentielle, la gentamicine et l'isépamicine auraient une moins grande néphrotoxicité lors d'une administration en monodose (**Beaucaire, 2000**). Les arguments pour l'injection unique par 24 heures reposent sur plusieurs constatations :

- la vitesse de bactéricidie des aminositides qui est concentration dépendante justifie une concentration élevée au pic de l'injection (**Freeman et al., 1997**).
- un effet post-antibiotique (EPA).
- une résistance adaptative (résistance à l'effet bactéricide lors de la deuxième administration) (**Maglio et al., 2002**).

#### I.2.5.3. Effets sur la bactérie

- Transport à l'intérieur des bactéries.
- traversée de la paroi bactérienne et fixation sur des structures externes de la membrane cytoplasmique.

- transport lent puis rapide à travers la membrane cytoplasmique.
- fixation sur le ribosome.
- Cible principale : le ribosome ; ils se fixent sur sa sous-unité 30 S ; ce qui induit une altération de la synthèse des protéines par inhibition de la traduction et induction d'erreurs de lecture du code génétique aboutissant à la synthèse de protéines anormales : mort cellulaire.
- Action sur d'autres cibles bactériennes : ils provoquent aussi désorganisation de la membrane bactérienne, modifications du transport des électrons, altération de la synthèse de l'ADN, dégradation non spécifique de certains ARN (**Ramos et al., 1999**).

### I.2.5.4. Caractéristiques de la bactéricidie

- Très intense : le nombre de bactéries survivantes à 24 heures est souvent très inférieur à 0,01 % de l'inoculum initial.
- Très rapide : « vitesse de bactéricidie » élevée (en moins de 4 heures)
- Indépendant de la densité bactérienne : absence d'« effet inoculum »
- Dose-dépendant : l'augmentation des concentrations sériques augmente la bactéricidie (**Ramos et al., 1999**).

### I.2.5.5. Effet post antibiotique

- **Effet post antibiotique** (EPA) des aminosides est caractérisé par suppression de la croissance bactérienne persistant après une exposition brève de bactéries à un antibiotique. Il est expliqué par les dommages cellulaires créés. L'EPA des aminosides est particulièrement marqué in vitro est de l'ordre de 2 à 6 heures pour les entérobactéries et *P. aeruginosa*. La durée de l'EPA est plus longue in vivo. Il apparaît dose-dépendant ce qui permet d'espacer l'intervalle de temps entre deux doses, sans craindre un phénomène de recroissance bactérienne (**Ramos et al., 1999**).

### I.2.5.6. Pharmacologie

#### I.2.5.6.1. Spectre d'activité

Les aminosides sont actifs contre certains bacilles à Gram négatif, en particulier les entérobactéries et *P. aeruginosa* (**Freeman et al., 1997**). La streptomycine est utile pour traiter la tuberculose résistante aux traitements habituels. La spectinomycine vient à bout de l'infection résistante à gonocoque, responsable de la gonorrhée, et la paromomycine est un anti-parasitaire employé contre certaines amibes et le *Cryptosporidium*. Comme la plupart des

antibiotiques, ils sont sans effets sur les champignons et les virus. Les aminosides sont sans effet contre les bactéries anaérobies et la plupart des bactéries à Gram positif (**Barclay et al., 1999**).

### I.2.5.6.2. Pharmacocinétique :

Les caractéristiques des différents aminosides sont similaires. Ils ne sont pas (ou peu) absorbés par voie entérale et ne sont pas métabolisés dans l'organisme. Leur diffusion extravasculaire est faible. Leur pénétration intracellulaire est lente par endocytose, mais la concentration d'antibiotique actif présent dans les lysosomes peut atteindre 10 à 20 fois celle du milieu extracellulaire.

Leur élimination se fait essentiellement par voie rénale sous forme active avec une demi-vie d'élimination moyenne de 2 heures. Une importante variabilité inter- et intra-individuelle caractérise ces paramètres pharmacocinétiques, justifiant une surveillance rapprochée de la concentration sérique des aminosides, en particulier au cours des traitements prolongés. Le passage de la membrane cytoplasmique d'une bactérie par un aminoside est un phénomène actif dont l'énergie est fournie par la chaîne d'oxydoréduction et qui dépend également d'un gradient protonique électrochimique (**Barclay et al., 1996**). L'acidité et l'hypoxie des tissus infectés, comme la richesse calcique ou magnésienne des os entravent la cellulose des aminosides (**Aiken et Wetzstein, 2002**).

### I.2.5.6.3. Pharmacodynamie

La bactéricidie des aminosides est concentration-dépendante ; la réduction de l'inoculum bactérien est proportionnelle à la concentration de l'antibiotique. Ainsi, la bactéricidie est corrélée avec le pic sérique et l'aire sous la courbe de la concentration sérique au-dessus de la CMI. Une valeur élevée de ces deux paramètres prédit une bonne efficacité thérapeutique (**Barclay et al., 1996**).

Par leurs propriétés neutralisantes de l'endotoxine, les aminosides en association avec une bêtalactamine diminue l'endotoxémie observée au cours d'un traitement par la seule bêtalactamine (**Obritsch et al., 2004**).

Les aminosides ont un effet post-antibiotique majeur : c'est-à-dire qu'aucune recroissance bactérienne n'apparaît lorsque les concentrations sériques et tissulaires de l'antibiotique sont inférieures à la CMI du germe après les pics observés au décours de l'injection (**Daikos et al., 1990**).

La durée de l'effet post-antibiotique dépend de la concentration de l'aminoside et de son temps d'exposition avec la bactérie ; cette durée est supérieure in vivo par rapport à l'étude in vitro. In vitro, elle varie de 0,5 à 4 heures pour le staphylocoque et de 2 à 7 heures pour les entérobactéries et *Pseudomonas* (Aloush et al., 2006).

Enfin, les aminosides ne sont pas (ou peu) sensibles à l'effet inoculum : c'est à dire que leur efficacité, affirmée in vitro par la détermination de la CMI en utilisant un inoculum faible ( $10^4$  à  $10^5$  UFC/mL), reste inchangée in vivo face à un inoculum de grande taille ( $>10^7$  UFC/ml) (Maglio et al., 2002).

### I.2.6. Béta-lactamines

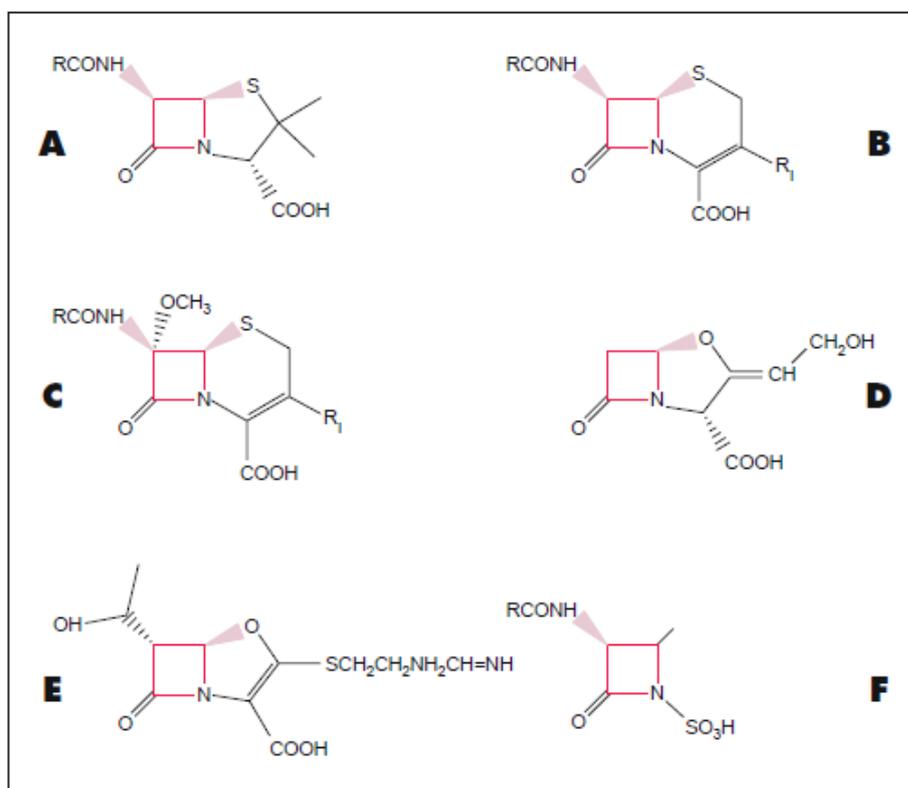
#### I.2.6.1. Définition des Béta-lactamines

Les bêta-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibioprophylaxie et en antibiothérapie. Elles représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle bêta-lactame. La famille des  $\beta$ -lactamines est répartie en quatre principaux groupes (Figure 02) : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes (Bryskier, 1999).

Les bêta -lactamines regroupent :

- Les pénams :
  - pénicillines qui comportent plusieurs groupes : PénicillineG (voie parentérale) et V (voie orale), Pénicilline M (mécilline), Pénicilline A (aminopénicilline)
  - Carboxy pénicillines (ticarcilline), réservées à l'usage hospitalier, qui outre le spectre de l'ampicilline agissent sur les entérobactéries hospitalières et les pseudomonas ticarcilline-sensibles.
  - Uréido-pénicillines (pipéracilline), de spectre analogue à la ticarcilline, réservées à l'usage hospitalier.
  - Amidino- pénicillines (pivmécillinam) spectre limité aux Entérobactéries (Cheng K et al., 1996).
- Les pénems : carbapénèmes (imipénème, méropénème) réservés aux infections hospitalières à germes résistants.
- Les céphems : céphalosporines qui comportent 3 classes: 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération.

- Les monobactams (aztréonam) réservés aux infections hospitalières sévères (Viaene et al., 2002)



**Figure 02 :** Structures de quelques  $\beta$ -lactamines (Charlier et al., 1998).

A : pénicillines ; B : céphalosporines ; C : céphamycines ; D : acide clavulanique ; E : imipénème (carbapénème) ; F : monobactames

### I.2.6.2. Mécanisme d'action

Les bêta lactamines, en se fixant aux protéines de liaison des pénicillines (PLP) inhibent la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne. Ainsi, les transpeptidases bactériennes, PLP intervenant dans la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, vont reconnaître le cycle bêta lactame du fait de son analogie structurale avec leur substrat naturel. Les PLP sont insérées à la face externe de la membrane cytoplasmique. Chez les bactéries à Gram - (Paul M et al., 2004) .

## I.3.. Antiseptiques et désinfectants

### I.3.1. Définition

Selon la Xème édition de la pharmacopée française (Janvier 1990), les antiseptiques peuvent

être aussi définis comme des préparations ayant la propriété d'éliminer ou de tuer les micro-organismes ou d'inactiver les virus sur des tissus vivants (peau saine, muqueuses, plaies) (CCLIN 2001). Ils sont présentés dans leur forme d'utilisation et sont utilisées telles quelles sauf exception justifiée et autorisée. Ils présentent une activité antibactérienne et/ou antifongique, antivirale. La destination d'emploi des préparations antiseptiques est précisée : peau saine, muqueuses, plaies, ainsi que la durée d'application nécessaire à l'obtention de l'activité en fonction de l'indication. L'inactivation par d'éventuelles substances interférentes ainsi que les incompatibilités sont indiquées (Bocary, 2006), avec l'intention de prévenir ou de limiter la gravité d'une infection sur ces tissus (CSHPF-CTIN, 1998). Elles n'altèrent pas les tissus sur lesquels elles sont placées (Bocary, 2006).

Le terme désinfectant comprend à la fois les désinfectants au sens strict et les antiseptiques. Les deux termes désignent les produits qui ont en commun la capacité d'inhiber ou de tuer les micro-organismes indésirables. Les désinfectants au sens strict sont destinés aux milieux inertes (instruments, surfaces); les antiseptiques sont destinés aux tissus vivants (peau, muqueuse). Ces produits agissent de façon momentanée, ils ne protègent pas contre une nouvelle contamination ni la prolifération naturelle (mitose, réplication). Ils doivent donc être réappliqués régulièrement (CAPP-INFO, 2007).

### I.3.2. Classification

On distingue différentes familles d'antiseptiques et de désinfectants en fonction de leur mode d'action sur la cellule des microorganismes: atteinte membranaire, coagulation de constituants intracellulaires, blocage d'enzymes protéiques....(CAPP-INFO, 2007).

Les antiseptiques peuvent être classés par :

- la famille chimique (halogénés : dérivés iodés, chlorés ...)
- les indications (antisepsie de la peau saine, peau lésée ou plaie, muqueuses...)
- le spectre d'activité (CCLIN, 2001).

#### I.3.2.1. Classification selon le spectre d'activité

Les antiseptiques se répartissent en quatre catégories comprenant les antiseptiques majeurs, mineurs, déconseillés et les produits considérés à tort comme antiseptique (CCLIN, 2001).

### I.3.3. Mode d'action des antiseptiques et des désinfectants

Les antiseptiques et les désinfectants sont capables d'inhiber la croissance des micro-organismes (action bactériostatique, fongistatique, virostatique) ou de les éliminer (action bactéricide, fongicide, virucide, sporicide). Certains produits possèdent les deux actions en fonction de la concentration utilisée. Généralement, plus la concentration est élevée, plus l'effet est de type létal (exception ex: éthanol 70% plus actif qu'à 96%) (**Prescrire, 2000 ; Russel et al., 2004**).

L'idéal pour répondre aux objectifs de l'antisepsie est un effet létal en un temps très bref. La rémanence désigne l'effet antimicrobien de l'antiseptique persistant sur la peau. Selon leur nature et la concentration, les antiseptiques ont un ou plusieurs sites d'action dans le microorganisme. Le mécanisme d'action varie selon la famille d'antiseptiques et le type de microorganisme (**Freney, 1995 ; CCLIN, 2001**).

### I.3.4. Spectre D'activité Théorique

Le spectre théorique des antiseptiques est défini généralement lors de la mise au point du produit. Il peut être modifié lors de l'utilisation du produit ; l'ampleur des modifications dépend des possibilités d'acquisition d'une résistance.

### I.3.5. Les Critères de choix

Les actes mettant en œuvre des antiseptiques doivent faire l'objet de prescription médicale ou de protocoles écrits et validés. Le choix de l'antiseptique doit intégrer plusieurs éléments :

- nature de la cible microbienne : préférer un antiseptique de large spectre.
- intensité de l'action antimicrobienne : effet bactéricide préférable en particulier sur les plaies et chez les sujets fragilisés.
- délai d'action, dure d'action, intérêt d'une action rémanente.
- terrain d'application : tenir compte de la fragilité, du pH (il doit être le plus proche possible de celui de la préparation), de la surface (petite, large, profonde) et le terrain peut être septique ou aseptique - stabilité du produit.
- solubilité du produit.
- qualité du conditionnement.
- tolérance.
- propriétés annexes de la formulation : action détergente, desséchante (**Larsone, 1999**;

CCLIN, 2001).

- coût. (CCLIN, 2001 ; Rachel, 2002).

### I.3.6. Toxicité des Antiseptiques

Les antiseptiques sont des médicaments à usage externe qui généralement ne sont pas toxiques, mais peuvent le devenir si :

- Leur utilisation est trop prolongée.
- Ils sont utilisés sur une très grande surface de la peau ou de la muqueuse.
- Ils sont sur dosés.
- Leurs principes de dilution ne sont pas respectés.
- Ils sont utilisés en excès dans certaines populations (les prématurés, les nouveau-nés, les nourrissons, les jeunes, enfants et les vieillards). Après ingestion accidentelle, on peut observer des troubles graves conduisant parfois à la mort (Freney, 1995 ; CCLIN, 2001 ; Rachel, 2002)

Dans les conditions d'utilisation pour l'antisepsie, l'eau oxygénée présente un spectre trop limité pour être employée (CCLIN, 2013).

## I.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

### I.4.1. Définition

Chaque antibiotique a son spectre d'activité, c'est-à dire, l'éventail des espèces bactériennes sensibles ; susceptibles d'être inhibées par des concentrations atteintes *in vivo* de cet antibiotique (Ferron, 1990).

On peut définir la résistance bactérienne aux antibiotiques comme la capacité des microorganismes d'une certaine espèce à survivre ou même à se développer en présence d'antibiotiques (CA-SFM, 2008).

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des microorganismes. Elle est toutefois favorisée par l'usage des antibiotiques qui exercent une pression de sélection en privilégiant la croissance de souches résistantes ou en induisant l'expression de phénotypes inductibles (ONEBRA, 1988).

### I.4.2. Types de résistance

La résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique peut être :

### I.4.2.1. Résistance naturelle (Intrinsèque)

Une espèce «non sensible», possède une résistance dite naturelle, liée aux caractères génétiques propres à cette espèce (Ferron, 1990). C'est une caractéristique appartenant à l'ensemble des souches d'une espèce bactérienne, elle est toujours transmissible à la descendance (Andreu et Mainardi, 2003). Le mécanisme de cette résistance naturelle varie selon l'espèce. Il peut s'agir d'une absence de pénétration, absence de cible moléculaire de l'antibiotique, ou d'une production naturelle d'enzyme d'inactivation (Ferron, 1990).

### I.4.2.2. Résistance acquise

L'utilisation des antibiotiques depuis de nombreuses années a contribué à la sélection des souches résistantes au sein d'espèces normalement sensibles ; cette résistance est dite acquise. Elle affecte la population de chaque espèce bactérienne avec une fréquence variable, qui dépend surtout de la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisés en thérapeutique (Ferron, 1990). Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre ; leur fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace - région, ville, hôpital ou même service (Andreu et Mainardi, 2003 ; Elmeskini, 2011). Il peut avoir une accumulation des mécanismes de résistances. Il existe des résistances acquises, consécutives à des modifications de l'équipement génétique chromosomique (par l'acquisition d'un gène) ou extra chromosomique par l'intermédiaire d'un support génétique mobile (plasmide, transposon). Elles constituent un marqueur épidémiologique (Poirel et al., 2003).

### I.4.3. Résistance du *P. aeruginosa*

*P. aeruginosa* présente une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques et, au cours du temps, les souches ont développé une résistance acquise (Barclay et al., 1999).

#### I.4.3.1. Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines

##### I.4.3.1.1. Résistance naturelle aux bêta-lactamines

➤ Résistance enzymatique:

Elle résulte de la synthèse par la bactérie d'une enzyme inactivatrice de  $\beta$ -lactamine appelée  $\beta$ -lactamase (Figure 03) (Poirel et al., 2003). Elle est liée à plusieurs mécanismes :

-Production d'une céphalosporinase chromosomique inductible du gène AmpC: responsable de la résistance à l'amoxicilline, C1G : céfalotine, C2G : céfoxitine, ceftriaxone, céfotaxime et ertapénème (McGowan, 2006).

-Faible perméabilité membranaire aux  $\beta$ -lactamines, due à la taille insuffisante des porines

(Poole, 2004).

- 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 internes et externes de la paroi bactérienne (Masuda et al., 2000).

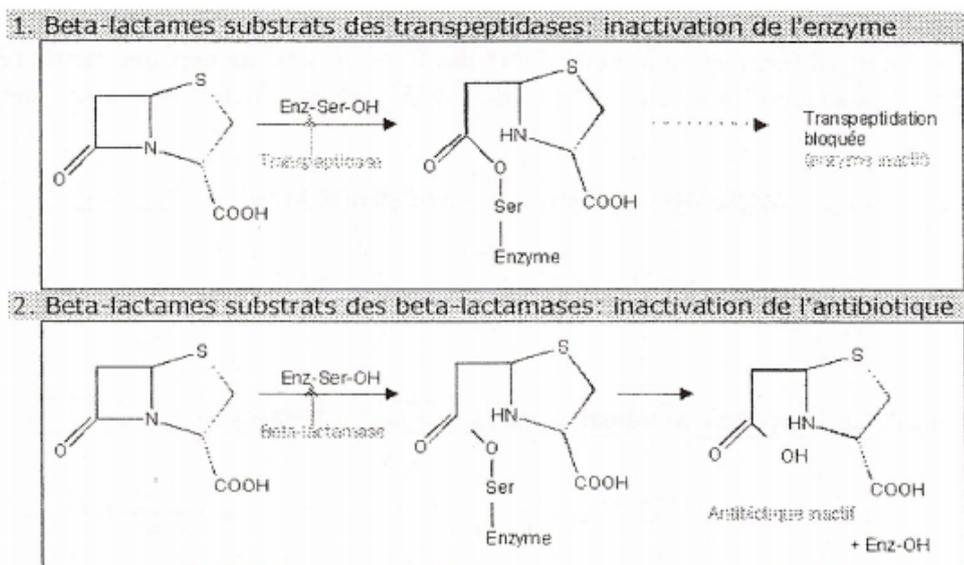


Figure 03 : La résistance enzymatique (Poirel et al., 2003).

### I.4.3.1.2. Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines

#### a. Résistance enzymatique

⇒ Acquisition de pénicillinases plasmidiques: celle-ci confère une résistance aux uréidopénicillines (ticarcilline, pipéracilline) et à la cefsulodine mais la sensibilité à la ceftazidime, l'aztréonam et l'imipénème est conservée.

A noter qu'il existe un risque d'induction de céphalosporinase (réversible) avec les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique) (Bagge et al., 2002).

⇒ Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC par mutation d'un gène de régulation : « céphalosporinase déréprimée ».

Les souches, ainsi modifiées, deviennent résistantes à toutes les bêtalactamines sauf les amidinopénicillines et les carbapénèmes. La mutation peut survenir inopinément au cours d'un traitement et entraîner des échecs thérapeutiques. Il existe différents niveaux de dérépression de la céphalosporinase (la plupart des souches ne sont que partiellement déréprimées), 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  $\beta$ -lactamases chez des souches sauvages, qui rendent alors l'association (inhibiteur de  $\beta$ -lactamases + céphalosporine) antagoniste (**Livermore, 1995**).

Acquisition d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE):

Ce sont des enzymes plasmidiques, Elles hydrolysent toutes les bétalactamines jusqu'aux C3G, restaurée théoriquement par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, avec une sensibilité conservée à l'imipénème. Elles sont très rarement rapportées chez *P. aeruginosa* (**Weldhagen et al., 2003**).

⇒ Carbapénémases

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 bétalactamines. La sensibilité à la piperacilline 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 (**Nordmann et Guibert, 1998**).

### ***b. Résistance non enzymatique***

⇒ Acquisition par mutations de systèmes d'efflux actif :

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  $\beta$ -lactamases. Certaines souches ne sont résistantes qu'à la ticarcilline, cette résistance n'étant pas restaurée par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases. La plupart des souches restent sensibles à la piperacilline et à la ceftazidime.

Parmi les carbapénèmes, seul le méropénème peut être affecté par un mécanisme d'efflux (**Pai et al., 2001**).

⇒ Mutation de la porine D2 (mutants oprD-) :

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 (**Nordmann, 2003**).

### I.4.3.2. Résistance aux aminosides

#### I.4.3.2.1. Résistance naturelle aux aminosides

*P. aeruginosa* est naturellement résistant à la kanamycine via la production d'une phosphotransférase (**Masuda et al., 2000**).

#### I.4.3.2.2. Résistance acquise aux aminosides

La résistance aux aminosides peut être assurée par :

- Par altération de la cible : mutation du site ribosomal, site de fixation de l'antibiotique.
- Par modification enzymatique de l'antibiotique (mécanisme le plus fréquent). Il existe de nombreuses enzymes capables d'altérer l'activité des aminosides. Elles sont produites à partir de gènes portés sur des plasmides (résistance transférable). Une enzyme peut inactiver plusieurs antibiotiques différents.
  - APH : Aminoside Phosphotransférases (5 sous- types en fonction du site d'action)
  - ANT : Nucléotidyltransférases (5 sous- types en fonction du site d'action)
  - AAC : Acétyltransférases (3 sous- types ).
- Par diminution de la pénétration de l'ATB dans la bactérie: modification des porines, altération du transport actif, mécanisme d'efflux actif (**Obritsch et al., 2004**).

Elle concerne par ordre de fréquence décroissante : la gentamicine, la tobramycine, la nétilmicine, et l'amikacine. La corésistance avec les  $\beta$ -lactamines et les fluoroquinolones est fréquente, surtout pour le sérotype O12 (**Poole, 2005**).

De ce fait il existe 2 mécanismes différents de résistance aux aminosides:

- ⇒ Résistance enzymatique : acquisition d'enzymes plasmidiques inactivatrices des aminosides. Ce sont les aminoacétyltransférases (AAC), nucléotidyltransférases (ANT), phosphotransférases (APH) (**Wright, 1999**).
- ⇒ Imperméabilité : 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 (Evans, 1994).

Un phénomène de résistance adaptative vis-à-vis les aminosides a été rapporté avec certaines bactéries : après un premier contact avec un aminoside, certaines souches deviennent moins sensibles à une deuxième dose d'antibiotique ; ce phénomène s'expliquerait par une modification des capacités de transport de l'aminoside avec réduction des concentrations au site d'action. Cette résistance disparaît en plusieurs heures après l'élimination de l'antibiotique du milieu (Freeman et al., 1997).

### I.5. Résistance bactérienne aux antiseptiques

#### I.5.1. Résistance intrinsèque bactérienne

La résistance naturelle ou intrinsèque est prévisible. Elle est due à la structure de la cellule bactérienne. Elle est une caractéristique innée et stable des espèces ou groupes microbiens vis à vis des antiseptiques et permet de définir le spectre théorique d'activité. Une espèce bactérienne peut être résistante aux antiseptiques, du fait de sa structure ou de son métabolisme enzymatique. Dans la paroi des bactéries Gram négatifs, il existe une membrane externe, composée de protéines, lipides et polysaccharides. Cette membrane externe n'est pas présente chez les Gram positif. La majorité des antiseptiques et désinfectants exercent leur action essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique et doivent donc traverser la paroi. Les bactéries Gram négatifs (*P. aeruginosa*) sont ainsi plus résistantes que les Gram positifs. La formation des biofilms sur les dispositifs médicaux est également un mécanisme de résistance intrinsèque (Russell, 1999; Poole, 2002 ; Sheldon, 2005; Piffaretti, 2006).

#### I.5.2. Résistance acquise aux désinfectants et antiseptiques

Le développement de résistances (résistance acquise) aux désinfectants et antiseptiques est moins fréquent que celui observé avec les antibiotiques, probablement en raison de la multiplicité des sites d'action des désinfectants et antiseptiques. Il résulte généralement de changements génétiques à l'intérieur de la cellule, conduisant ensuite à un rejet de l'antiseptique ou du désinfectant hors de la cellule (efflux) (Russell, 1999; Poole, 2002 ; Sheldon, 2005; Piffaretti, 2006).

Cette résistance peut être due à une :

-Mutation d'un gène de la cellule bactérienne (résistance acquise chromosomique) Les modifications siègent au niveau de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Elles diminuent, voire empêchent totalement la fixation ou la pénétration du produit.

Une autre possibilité est une mutation des gènes codant pour les porines entraînant des modifications qualitatives de ces protéines.

-Acquisition d'un plasmide (résistance acquise plasmidique ou extra chromosomique est exceptionnelle)(CAPP-INFO, 2007).

### I.6. Conséquences d'une résistance

Lors de conditions expérimentales, l'apparition de résistance croisée entre désinfectants/antiseptiques et antibiotiques a été démontrée avec certaines souches de bactéries. Ainsi l'exposition aux désinfectants/antiseptiques pourrait conduire à une efficacité réduite des antibiotiques lors de certaines infections bactériennes chez les patients. Des études complémentaires sont nécessaires (Russell, 1999; Poole, 2002 ; Sheldon, 2005; Piffaretti, 2006 ; CAPP-INFO, 2007).

Les bactéries résistantes sont sélectionnées lors de l'utilisation des antiseptiques quand les concentrations actives sont trop faibles pour les inhiber ou les tuer dans les conditions d'utilisation. Pour éviter une telle situation, il faut tenir compte de deux éléments :

- Le spectre d'activité théorique.
- Les conditions d'utilisation (concentrations et temps d'application des produits) indiquées par le laboratoire. Pour cela, il est préférable d'utiliser des antiseptiques ou associations d'antiseptiques à spectre large dont l'activité a été évaluée (Freney, 1995 ; Clin Sud-Ouest, 2001).

**MATERIEL**  
**ET**  
**METHODES**

### II. Matériels et méthodes

Nous avons mené une étude pratique sur l'identification biochimique et l'évaluation de l'antibio-résistance et l'antisepto-résistance des souches de *P. aeruginosa* sur une période allant de Janvier 2011 à Décembre 2016.

Un total de 535 souches d'origine pathologique a été collecté à partir des différents établissements de santé à partir des différents laboratoires de microbiologie médicale soit des hôpitaux, des cliniques ou de laboratoire privés de quatre wilaya Souk Ahras, Annaba, Guelma, et Tebbessa hopitale de : Ibn Rochd, Dorban, El Hadjar, clinique de Abou Marouane de Annaba, hôpital de Ibn Rochd, Laboratoire d'analyse de :Mansouri, El Atik , clinique Ibn Sina de Souk Ahras et de l'hôpital de Khaldi Abd Alaziz, clinique Alaya Alah de Tebessa et l'hopital de Ghuelma

Les souches testées sont issues de plusieurs types de prélèvements pathologiques (urines, pus, liquides pleuraux, lésions chirurgicales...) des patients de différents catégories (femmes, hommes, enfants, nourrissons) et de différents âges (Tableau 01, 02, 03, 04 ; Annexe 1) ; où on a pratiquement :

- Identifier biochimiquement les isolats
- Evaluer leur résistance aux aminosides et aux bêtalactamines.
- Evaluer leur résistance à quelques antiseptiques et à un désinfectant.
- Evaluer l'effet post antibiotique (EPA).

#### II.1. Identification des isolats

L'identification des isolats a été réalisée sur la base de l'aspect macroscopique des colonies et leurs pigmentations sur les milieux de culture, les testes de cytochrome oxydase et de catalase positifs le Gram négatif (**Thacker, 1994**) ainsi que le profil d'assimilation de substrat.

##### II.1.1. Identification biochimique classique

Après une pré-identification par la coloration de Gram, la recherche de la catalase et de l'oxydase et la mise en évidence des pigments spécifique (poyocyanine et pyoverdine), les souches collectées sont identifiées soit par la galerie API 20NE soit par l'Automate VITEK 2<sup>TM</sup> Compacte 15 selon la disponibilité.

### II.1.1.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle teste l'alcool résistance d'une souche bactérienne (John et al, 2003). Dans notre étude, on a pratiqué les étapes de coloration et lecture recommandées par (Singletons et Sinsburg, 1984, (Singh et al., 2006).

### II.1.1.2. Recherche de catalase

- **Principe**

La catalase est une enzyme produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire aérobie stricte et aéro-anaérobie facultatif. Elle peut décomposer le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) (Ferron, 1990 ; Delarras, 2014)

- **Technique**

Sur une lame propre et sèche, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes puis à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile ou une anse du platine stérile, ajouter l'inoculum bactérien (dans la zone d'asepsie) et observer immédiatement (Ferron, 1990).

- **Lecture**

- **Catalase positive** : Apparition de bulles d'oxygène ; L' $H_2O_2$  est donc décomposée en  $H_2O$  et  $1/2 O_2$  et la bactérie possède une catalase.
- **Catalase négative** : Pas d'apparition de bulles d'oxygène ; L' $H_2O_2$  n'est pas donc dégradé et la bactérie ne possède pas de catalase (Ferron, 1990).

### II.1.1.3. Recherche de l'oxydase

- **Principe**

La cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation. En présence d'oxygène ambiant, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit coloré. La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Les substrats (qui constituent le "réactif oxydase") peuvent être l'oxalate de N-tétraméthyl. paraphénylène diamine (en préférence) ou l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (moins sensible) Sur le marché ils sont présentes en plusieurs formes (poudre, prêt à l'emploi en flacon compte goutte, disque imprégné de réactif stabilisé) (Ferron, 1990).

- **Technique :**

- ⇒ Déposer le disque (OX) sur une lame propre (préalablement flambée)
- ⇒ Humidifier le disque avec l'eau distillée stérile
- ⇒ A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, écraser la colonie sur le disque (OX).

- **Lecture :**

L'apparition d'une coloration violette ou brun noir au disque; signifie que la bactérie en question possède une cytochrome oxydase (**Carbonelle et al., 1987**).

### II.1.1.4. Mise en évidence de pigments spécifiques

- **Principe**

La détermination de la nature du pigment a été réalisée sur les deux milieux King A et King B qui sont contenus dans des tubes inclinés.

- **Technique**

- ⇒ A l'aide d'une anse de platine stérile prélever une colonie d'une culture pure et jeune
- ⇒ Ensemencer les deux milieux de King A et King B par des stries longitudinales sur la pente des tubes.
- ⇒ Incuber de préférence à 30°C pendant 24h (**Ashdown, 1997**).

- **Lecture**

- **Milieu King B**

La gélose King B favorise la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*. Le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, tout en inhibant la production de pyocyanine. Le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine (**Prescott et al., 2003**) ce qui permet d'orienter l'identification de *P. aeruginosa*.

- **Milieu King A**

La gélose King A permet la détection de la synthèse de pyocyanine, pigment élaboré spécifiquement par *P. aeruginosa* (bacille pyocyanique).

La production de pyocyanine se manifeste en colorant le milieu de culture en bleu. Si

les deux pigments pyocyanine et pyoverdine sont synthétisés en même temps, le milieu se colore en vert.

En cas de doute, il suffit de verser 0,5 ml de chloroforme et de le laisser pendant quelques minutes au contact de la gélose en position inclinée. La pyocyanine est très soluble dans le chloroforme ; colore celui-ci en bleu (virage au rouge en ajoutant quelques gouttes d'un acide fort). Le milieu n'a pas besoin d'être examiné au-delà du quatrième jour de culture (**Prescott et al., 2003**).

- **Technique :**

- ⇒ Ensemencer la pente du tube King A par strie centrale.

- ⇒ Incuber à 30°C pendant 1 à 4 jours.

- **Lecture :**

La coloration du milieu en bleu vert traduit la présence d'un pigment. La pyocyanine est mise en évidence par l'addition de 1 ml de chloroforme sur la pente du tube.

La coloration du chloroforme en bleu signifie la présence de pyocyanine (**Carbonelle et al., 1987**).

### II.1.2. Identification biochimique par la galerie API 20NE

L'identification par la galerie Api20NE a été réalisée selon les recommandations de biomérieux (2003); en se référant au tableau de lecture (**Tableau 05; Annexe 2**) et à un tableau d'identification du catalogue analytique (**Tableau 06; Annexe 2**).

### II.2. Purification

Les colonies lactose négatives, présentant des bactéries Gram négatives pourvues de catalase et oxydase avec présence de pigmentation et odeur caractéristique, seront repiquées jusqu'à l'obtention d'une culture pure (le même aspect des colonies sur une seule boîte de Pétri).

### II.3. Conservation

Cette opération est nécessaire pour le maintien de la viabilité des souches purifiées. Elle consiste à conserver les souches pures jusqu'au moment de leur utilisation. Les techniques utilisées sont la conservation sur gélose et la congélation.

#### II.3.1. Conservation au froid

- ⇒ Ensemencer chaque souche dans un tube de milieu de conservation.

- ⇒ Incuber à 37°C pendant 18 h.
- ⇒ Recouvrir les tubes avec du papier aluminium.
- ⇒ Stocker au réfrigérateur à 4°C à 6°C.

### II.3.2. Conservation par congélation

- ⇒ Cultiver les souches dans le bouillon nutritif à 37°C pendant 24 h afin d'obtenir des cultures denses.
- ⇒ Ajouter à chaque culture le glycérol stérile de telle sorte que sa concentration finale dans le mélange atteint 50% (Nicolas *et al.*, 1984).
- ⇒ Conserver les souches à -30°C dans des tubes Eppendorfs à raison de trois tubes pour chaque souche.

### II.4. Etude de l'antibiorésistance

L'étude de l'antibiorésistance a été établie par la réalisation de l'antibiogramme, la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), la détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB), la recherche des BLSE et la réalisation d'un antiseptogramme.

Afin de collecter des souches résistantes ; la première partie de cette étude a été réalisée entre février 2011 et décembre 2013. Elle a visé le suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine en Algérie. Sur 455 souches collectées, on a testé 356 souches, les 99 souches restantes ont été perdues suite à des repiquages.

Entre janvier 2014 et décembre 2016, on a collecté que 80 souches à partir de l'hôpital d'El Hadjar d'Annaba et ceux cités précédemment de la Wilaya de Souk Ahras.

En 2014 on a réussi à tester que 17 souches caractérisées comme souches résistantes. En 2016, 17 souches isolées au niveau de l'hôpital d'Ibn Roche de la Wilaya de Souk Ahras ont été collectées.

On a aussi déterminé la sensibilité des souches isolées aux antiseptiques fréquemment utilisés pour la désinfection de la peau. Le désinfectant majoritairement utilisé dans les établissements de santé est l'eau chlorée. De même le chlore entre dans la composition de nombreux produits de type antiseptique (Dakin...). De ce fait, on a essayé de déterminer les concentrations inhibitrices de ce désinfectant.

Les souches montrant une résistance font l'objet d'une détermination des CMI, CMB et de l'effet post antibiotique vis à vis de l'imipénème et l'amikacine.

### II.4.1. Antibiogramme

- **Principe**

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques. Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (technique des disques), la culture bactérienne estensemencée à la surface de la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits (**Guerin-Fauble et al., 1999**).

Il faut souligner qu'entre Janvier 2011 et Décembre 2014, le profil de résistance des souches isolées vis-à-vis les antibiotiques (**Tableau 07, Annexe3**) a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ; selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA. SFM, 2013). Par contre en 2016 il a été déterminé par VITEK 2™ compacte 15.

### II.4.2. Recherche de pouvoir inhibiteur des antiseptiques

- **Principe**

Cette recherche vise à déterminer la sensibilité des souches isolées aux antiseptiques fréquemment utilisés pour la désinfection de la peau.

Trois antiseptiques (**alcool chirurgical à 70°, alcool iodée à 10% et eau oxygénée à 10 volume**) ont été testés dans cette étude. La méthode utilisée est appliquée par analogie à la méthode d'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé recommandée par le CA-SFM (2013).

- **Technique**

\* **Milieu** : Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm. Les géloses sont séchées avant l'emploi.

\* **Inoculum**

⇒ A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- ⇒ Bien décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- ⇒ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. Puis diluer au 1/10.
- ⇒ L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- ⇒ L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

### \* **Ensemencement**

- ⇒ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- ⇒ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- ⇒ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

### \* **Application des disques imbibés d'antiseptiques**

- ⇒ À l'aide de pinces bactériologique stériles; appliquer les disques imbibés d'antiseptiques (commercialisé) à la surface de la gélose, et presser chacun d'entre eux pour s'assurer de son application.
- ⇒ Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

- **Incubation**

Incuber 18 heures à 37°C.

- **Lecture**

Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée (Rahal et al., 2008).

### II.4.3. Détermination des concentrations inhibitrices de l'eau chlorée

Les concentrations inhibitrices de l'eau chlorée ont été déterminées par analogie à la méthode de détermination des CMI et CMB recommandée par CA-SFM (2013).

- **Technique**

- ⇒ A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ⇒ Bien décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- ⇒ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.
- ⇒ Préparer une série de différentes concentrations d'une eau chlorée à 13° dans un bouillon nutritif dans des tubes à essai à raison de 9ml par tube pour chaque souche. Les concentrations testées varient de 0.125-2%
- ⇒ Ensemencer chaque tube par 1ml de la suspension bactérienne.

- **Incubation**

- incuber 18à 24 heures à 37°C.

- **Lecture**

-les tubes présentant un trouble = concentration n'est pas inhibitrice.

-les tubes ne présentant pas un trouble = concentration inhibitrice.

Pour confirmer l'inhibition est bactériostatique ou bactéricide, nous avons réensemencé les tubes négatifs sur gélose Muller Hinton, en boîte, par strié longitudinale à raison de quatre striés au maximum par boîte.

### II.4.4. Détermination des concentrations inhibitrices des antibiotiques

Les principaux paramètres utilisés *in vitro* pour quantifier l'activité antibactérienne d'un antibiotique sont la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide (Belmiloudi, 2012).

#### II.4.4.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices

- **Principe**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration d'antibiotique qui

inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne (Archambaud, 2009), à partir d'un inoculum standard (Li et al., 2001 ; Courvalin et Leclercq, 2006), après 18 heures d'incubation à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique (Archambaud, 2009).

Les CMI permettent de classer la sensibilité de la bactérie en catégories thérapeutiques définies par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM): sensible, intermédiaire, ou résistant CA-SFM (2013). L'étude des CMI est à la base de l'antibiogramme. Elle est effectuée en routine de laboratoire pour tester les antibiotiques actifs sur la souche isolée. Ces paramètres sont de bons prédicteurs de la puissance de l'interaction antibiotique-bactérie ((Stratton et al., 1982 ; Gengo et al., 1984 ; DiPiro et al., 1996 ; Aeschlimann et Rybak, 1998)

La détermination de la CMI a été réalisée selon la méthode de macrodilution préconisée par CA-SFM (CA-SFM, 2013).

- **Technique**

- ⇒ On repartit dans une série de tubes stériles un volume constant de bouillon MH, qu'on ensemence avec un inoculum fixe de bactéries, environ  $10^7$  UFC (unité formant colonie).
- ⇒ Ajouter à ces tubes des quantités croissantes de l'antibiotique à étudier. Ces quantités qui déterminent les concentrations sont variables selon les souches et les antibiotiques.
- ⇒ Un tube témoin est laissé sans antibiotique.
- ⇒ Après 18-24 heures d'incubation à 37°C, les tubes sont soigneusement examinés.

- **Lecture**

- Le tube témoin sans antibiotique est uniformément trouble.
- Le premier tube de la série demeuré limpide indique précisément la CMI.

### II.4.4.2. Détermination de la concentration Minimale Bactéricide

- **Principe**

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la faible concentration d'antibiotique capable de tuer les bactéries après 18-24h d'incubation dans un milieu de croissance

spécifique en laissant un pourcentage de bactéries survivantes  $< 0,01\%$  de l'inoculum de départ. La CMB est une valeur indicative de l'activité bactéricide de l'antibiotique (**Li et al., 2001 ; Courvalin et Leclercq, 2006**). Ainsi, un antibiotique sera considéré comme bactéricide lorsque la CMB est au moins égale à 4 fois la CMI; au dessous il sera considéré comme bactériostatique. Les antibiotiques bactéricides seront donc préférés en cas d'infection grave, d'inoculum important ou chez le patient immunodéprimé (**Courvalin et Leclercq, 2006**).

- **Technique**

La CMB est déterminée après une recherche de CMI en milieu liquide. La technique consiste à ensemencer sur un milieu gélosé dépourvu d'antibiotique, une quantité définie de tous les tubes ne présentant pas de croissance visible et à dénombrer les bactéries survivantes. Ce nombre est comparé au nombre de bactéries initialement présentes dans l'inoculum (**Bédos, 1999**).

- **Lecture**

La CMB de l'ATB est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie. Chaque expérience est réalisée trois fois.

Le **rapport CMB/CMI** permet de caractériser le type d'activité d'un antibiotique donné (**Denis et al., 2008**)

- Le rapport CMB/CMI permet de classer les antibiotiques suivant leurs caractères comme bactéricides (rapport proche de 1).
- bactériostatiques (rapport supérieur à 4).
- si  $CMB > 10 CMI$ , on le considère peu efficace (**Williams et Ryan., 1998**).

Selon **Denis et al., (2008)**, le **rapport CMB/CMI** permet de caractériser le type d'activité d'un antibiotique donné comme suit :

- -  $CMB/CMI \leq 4$  : antibiotique bactéricide
- -  $CMB/CMI$  4 à 16 : antibiotique bactériostatique
- -  $CMB/CMI > 16$  : bactérie dite tolérante à l'antibiotique (**Denis et al., 2008**).

### **II.5. Identification et Antibiogramme réalisés par l'Automate VITEK 2™ Compacte 15**

VITEK 2 est un système automatisé composé d'instruments, d'un logiciel et de cartes destinées à l'identification et l'antibiogramme de bactéries et de levures. Le VITEK 2 utilise la croissance basée sur des profils biochimiques pour déterminer l'identification. Il détermine

un résultat de concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la plupart des combinaisons germe/antibiotique ainsi qu'une catégorie clinique (S, I ou R) en accord avec les critères d'acceptation. Chaque antibiotique est validé par l'autorité réglementaire appropriée pour être testé sur un panel de germe (Eynard, 2013).

➤ **Préparation et standardisation de l'inoculum** (Figure 04)

-Transférer 3ml de solution saline stérile aqueuse (à l'aide d'une dispensette) concentrée à 0,45 – 0,50 % de NaCl et de pH 4,5 à 7 dans le tube 1.

A partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et les mettre en suspension homogène dans la solution saline.

Bien mélanger la suspension à l'aide d'un agitateur;

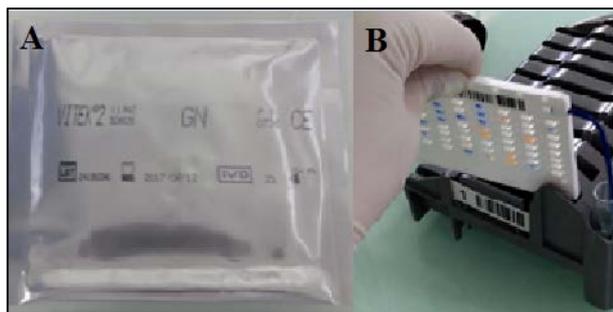
Contrôler la densité optique de la suspension mère avec le DensiChek Plus (Inoculum de 0,5 à 0,63 Mac Farland pour les bactéries Gram négatifs et Gram positifs) (Biomerieux, 2011 ; Ferrant, 2013).



**Figure 04:** Préparation et standardisation de l'inoculum pour l'Automate VITEK 2™ (Clichée par Khacha, 2016).

- En augmentant sa concentration par ajout de NaCl.
- En insistant sur l'écrasement à l'écouvillon des colonies au fond du tube suivi d'une agitation (Biomerieux, 2011 ; Ferrant, 2013).

Prendre une carte identification et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube 1 contenant la suspension mère (Figure 05)



**Figure 05:** Placement des cartes d'identification sur la cassette de l'Automate VITEK 2™  
(Clichée par **Khacha, 2016**)

**A :** carte d'identification. **B :** la paille de transfert plongeant dans le tube 1.

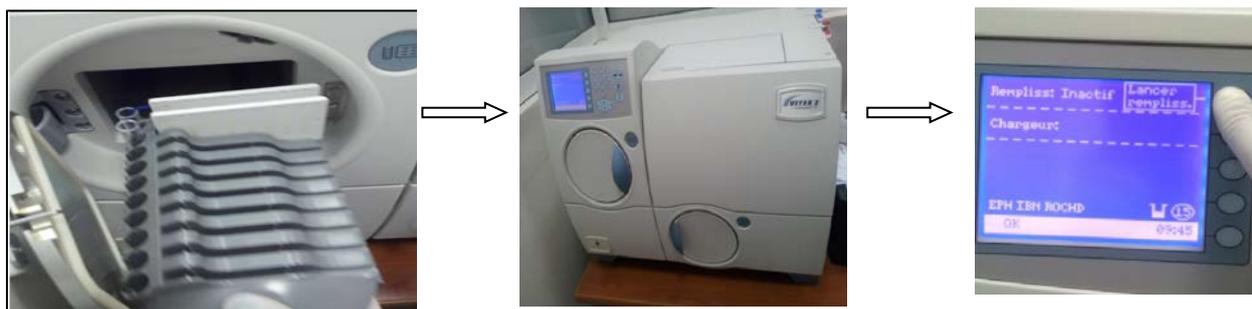
### ➤ Préparation de la suspension pour l'antibiogramme

- ⇒ -Transférer 3ml de la solution saline dans le tube 2.
- ⇒ -En utilisant les micropipettes manuelles fournies avec le système, transférer de la suspension mère du tube 1 vers le tube 2.
- ⇒ Pour les Gram négatifs : 145µl du tube 1 vers le tube 2 avec la micropipette manuelle rouge.
- ⇒ Remarque : Pour les Gram positifs : 280µl du tube 1 vers le tube 2 avec la micropipette manuelle bleue.
- ⇒ Prendre une carte d'antibiogramme et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube 2 contenant la suspension mère diluée.

Refaire les étapes suscitées pour les autres échantillons avant de charger la cassette dans le Vitek 2 Compacte

### ➤ Chargement de la cassette pour inoculation.

Charger la cassette dans l'instrument (chambre d'inoculation) puis fermer la porte. A ce moment appuyer sur le « Lancer remplissage » (Figure 06), le remplissage automatique des cartes est réalisé grâce à un système de vide qui force la suspension bactérienne migrer depuis le tube de transfert jusqu'aux microcapillaires, ce qui permet de remplir tous les puits réactionnels de la carte (**Biomerieux, 2011 ; Ferrant, 2013**).



**Figure 06:** Lancement de remplissage de l'Automate VITEK 2™ (Clichée par Khacha, 2016).

A la fin du remplissage, un voyant lumineux (Flèche bleue clignotante) indique au bout de 70 secondes que le cycle de remplissage est terminé.

### ➤ **Chargement de la cassette dans le lecteur/incubateur**

- ⇒ Retirer la cassette de la chambre d'inoculation puis ouvrir la porte du lecteur/incubateur.
- ⇒ Placer la cassette à l'intérieur (sans pousser et dans un délai maximum de 10 minutes) puis refermer la porte
- ⇒ Si la réconciliation est correcte, l'instrument émet un son « happy Song ».
- ⇒ A la fin du chargement, un voyant lumineux (Flèche bleue clignotante) indique que le chargement des cartes est terminé
- ⇒ Le tube de transfert est ensuite sectionné et les cartes sont scellées avant d'être incubées à 37°C
- ⇒ Ouvrir la porte du lecteur/Incubateur, retirer la cassette vidée de ses cartes et refermer aussitôt la porte.
- ⇒ L'instrument lit les codes à barres des cartes et envoie automatiquement les informations au logiciel.

**Remarque :** On peut se renseigner dans la station de travail (PC) sur les informations des patients et sur les prélèvements (Woldanski, 2010).

-A la fin de l'analyse, les cartes usagées sont éjectées automatiquement dans le collecteur de déchets intégré ; vider régulièrement ce collecteur (Shayne, 2009).

### • **Lecture**

Le résultat d'identification est disponible au bout de 18 heures. On peut alors se renseigner dans l'ordinateur des caractères des tests autonomes afin d'aboutir au rapport de laboratoire

(Shayne, 2009 ; Biomerieux, 2011).

## **II.6. Recherche de la Bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE)**

### **II.6.1. Définition d'une BLSE**

Les Bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu désignent des enzymes «Bêta -lactamases» produites par les entérobactéries. Elle entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3ième génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam (aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipeneme).

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

cefotaxime (CTX < 27mm), ceftazidime (CAZ <22mm), ceftriaxone (CRO < 25mm) et aztréonam (ATM < 27 mm).

### **II.6.2. Méthodes de détection de la BLSE**

Dans notre étude, la recherche de la Bêta-lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme selon les recommandations de **CA-SFM (2013)**.

#### **> Test de synergie :**

- Principe :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de Bêta-lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam). La détection de cette enzyme est plus difficile chez *P. aeruginosa* en raison d'association avec d'autres mécanismes de résistance tels : hyperproduction de céphalosporinase.

- **Technique :**

La recherche de la Bêta-lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC 75/10pg) à 30mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3ème génération ceftazidime (CAZ 30pg) et aztréonam (ATM 30pg), puis incuber 18 H à 37 °C.

### • Lecture

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

Ticarcilline+ acide clavulanique et la céftazidime

Ticarcilline +acide clavulanique et l'aztréonam.

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE par le rapprochement des disques TCC et CAZ (15mm et 20mm centre à centre) au lieu de 30mm (**Rahal et al., 2008**).

### II.7. Recherche de l'effet post antibiotique

L'effet post antibiotique (EPA) s'agit du maintien de la suppression de la croissance bactérienne pendant un temps plus ou moins prolongé, après le retrait complet de l'antibiotique (**Eagle et Musselman 1994**). Il est maintenant bien établi et caractérisé au point d'être pris en compte systématiquement lors de l'évaluation pré-clinique de la plupart des nouveaux antibiotiques et d'être mesuré par des méthodes automatique dans des laboratoires de microbiologie médicale (**Jason et al.,1994**).

L'EPA est définie comme la différence entre le temps exigé par la culture étudiée et le temps exigé par la culture témoin pour une croissance de 1log après inactivation de l'antibiotique (**Bustamante al., 1984**). Il est variable avec le germe, l'antibiotique, sa concentration et la durée d'exposition. De ce fait il traduit la rémanence de l'action antibiotique et il est typiquement observé pour les antibiotiques ayant une action irréversible ou lentement réversible sur les synthèses bactériennes.

#### • Technique:

- ⇒ Une quantité d'antibiotique correspondant à la CMI, 10CMI et CMB est ajoutée à 10ml de culture bactérienne en phase logarithmique contenant  $10^7$  UFC/ml.
- ⇒ Après un premier dénombrement vérifiant la densité de l'inoculum de départ, Les tubes sont placés dans un bain-marie à agitation de va et vient.
- ⇒ A l'issue de cette mise en contact, l'activité antibiotique est éliminée, après une demie heure, une heure et deux heures par dilution de  $10^3$  dans du bouillon de Mueller-Hinton.
- ⇒ Un témoin sans antibiotique est étudié de la même façon.

- ⇒ Un témoin non inactivé est dilué dans les mêmes conditions et additionné d'une quantité d'antibiotique équivalente à celle demeurant après la dilution.
- ⇒ Des dénombrements sont immédiatement réalisés sur tous les tubes (**Zucarelli et al., 1998**).
- ⇒ Ces numération sont poursuivies toutes les heures pendant 8-10 heures.
- ⇒ La courbe obtenue permet de suivre l'effet post antibiotique pendant le temps de mise en contact avec l'antibiotique et la recroissance de population bactérienne après inactivation de l'antibiotique.

# RESULTATS

### III. Résultats

#### III.1. Répartition des prélèvements

Sur une période de 5 ans de Janvier 2011 jusqu'à Décembre 2016, on pu collecter 535 souches de différents produits pathologiques (urines, liquides pleuraux, pus d'oreille, prélèvements vaginaux, sondes, lésions chirurgicales...). Différents laboratoires de microbiologie (privés, étatiques) des willaya Annaba, Ghelma, Souk Ahras et Tebessa ont accepté de nous aider à réaliser cette étude. Une fiche de renseignement a été préparée et donnée au personnel afin de faciliter la surveillance de l'évolution de la résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Les renseignements fournis sont résumés dans les tableaux : tableau 01, tableau 02, tableau 03, tableau 04 (Annexe 1)

##### III.1.1. Répartition des prélèvements selon le sexe

Selon les données des fiches de renseignements (Tableau 01 ; Annexe 1) ; on a remarqué que les prélèvements sont répartis entre 48.22% femme et 46.54% homme. 3.55% sont signalés comme adultes et 1.68% comme enfants sans préciser le sexe (Figure 07). Ces résultats montrent une différence de 1.68% des femmes par rapport aux hommes ; donc un sexe ratio de 1.03.

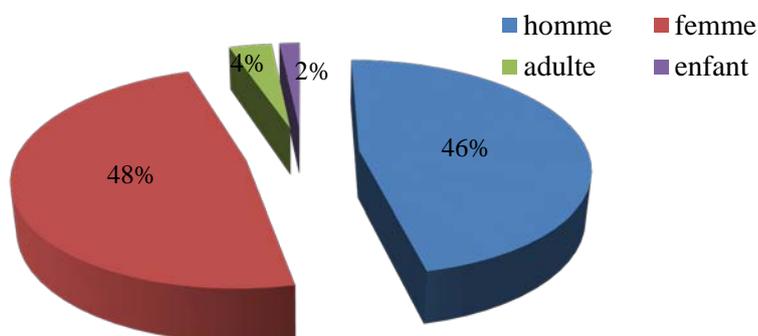
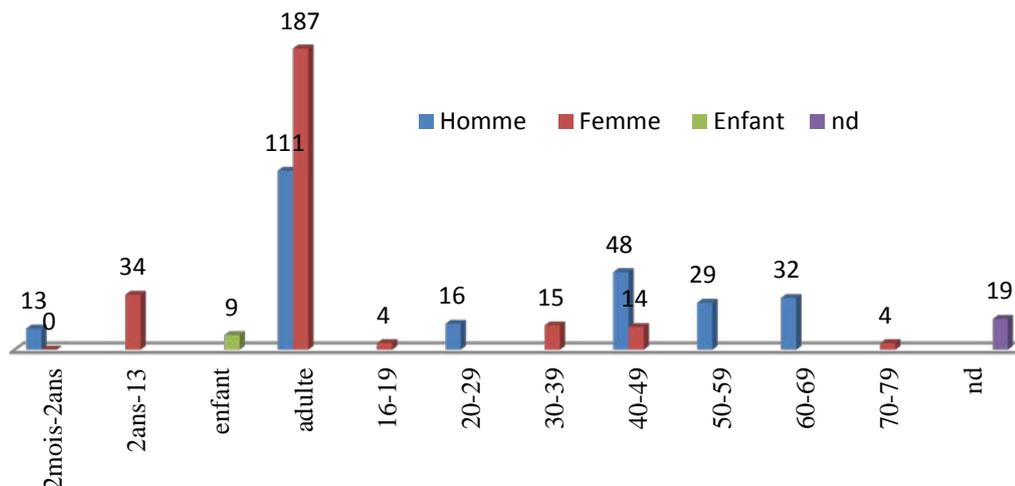


Figure 07: Répartition des prélèvements selon le sexe

##### III.1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge

Les renseignements consignés dans le Tableau 02 (Annexe 1), montrent que les souches collectées proviennent des patients de différentes tranches d'âge (Figure 08) de 2mois jusqu'à 72 ans. Les effectifs les plus faibles sont observés chez les personnes dont les tranches d'âges varient entre 70-79 ans et ceux entre 16-19 ans



**Figure 08: Répartition des prélèvements selon l'âge**

### III.1.3. Répartition des prélèvements selon l'origine pathologique

La Figure (09) montre que 64.49% des souches collectés dans cette étude proviennent des urines, 14.01% de pus dont 13.33% provenant des oreilles et les restants (86.66%) sont signalé comme pus sans signaler l'origine. 1.87% des souches ont été isolées des lésions chirurgicales sans préciser si elles sont infectées ou non ; présentant du pus ou non. Cette figure montre aussi que 2.05% des souches ont une origine pleurale, 1.12% des plaies, 0.74% des prélèvements vaginaux et 0.37% des sonde gastriques. En revanche 15.32% des prélèvements sont d'origine inconnue.

### III.1.4. Répartition des prélèvements selon les services

L'analyse des données de la figure 10, montre que 70.09% des prélèvements ne sont pas attribués à un service particulier. Ceux qui sont mentionné de quel service sont issus, montrent que le service de pneumologie présente une prévalence de 6.54%, le service de l'ORL 4.11% la pédiatrie 3.92%, consultation externe 3.36%, urologie 2.80% et celui de la médecine interne 2.80%. La réanimation 1.86% et en dernière position l'infectieux avec un pourcentage de 0.93%.

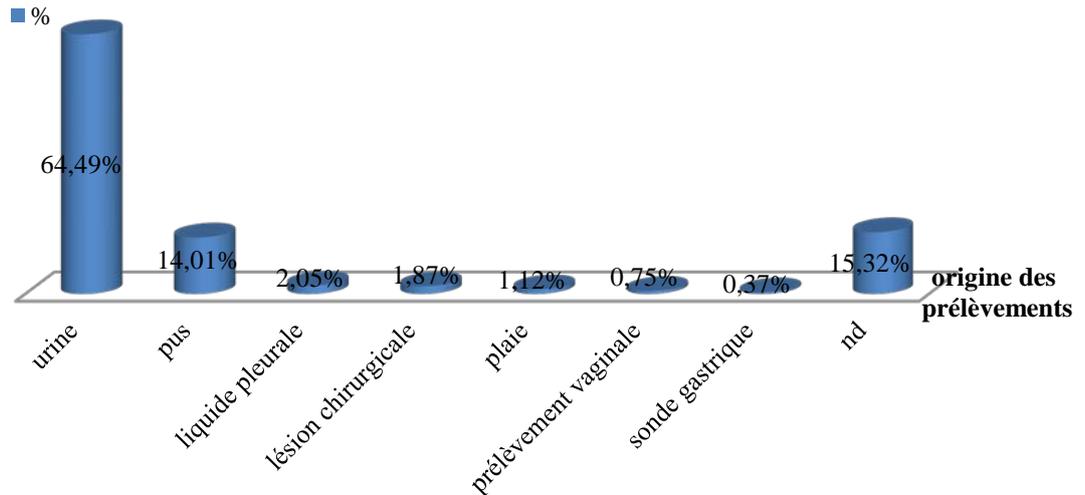


Figure 09: Répartition des prélèvements selon l'origine pathologique

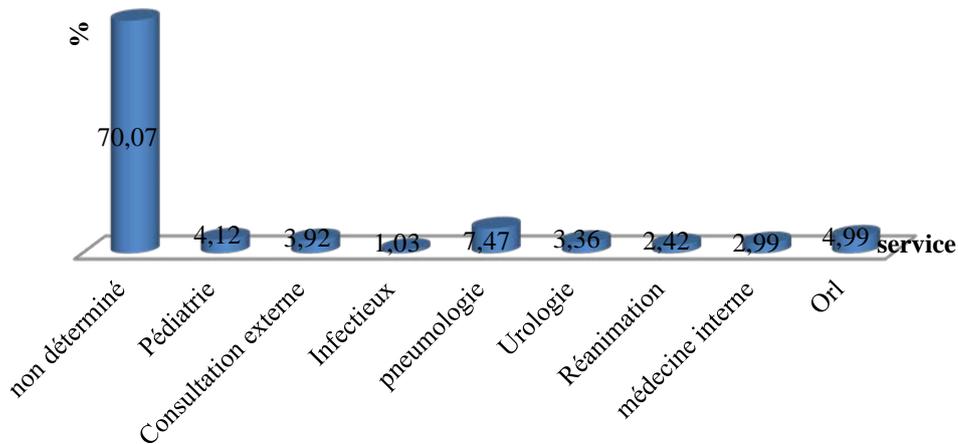


figure 10: Répartition des prélèvement selon les services

### III.2. Résultats de l'identification

Les souches étudiées, proviennent de différents prélèvements pathologiques, ont permis de caractériser différents aspects des colonies sur le même milieu de culture (Tableau 08, Tableau 09).

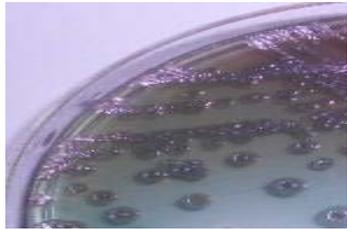
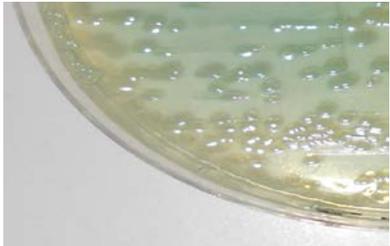
La totalité des souches testées a produit les deux types de pigments (poyocyanine et

## Résultats

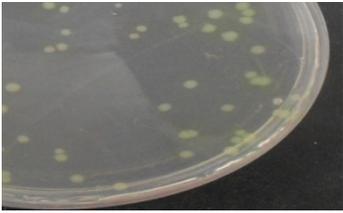
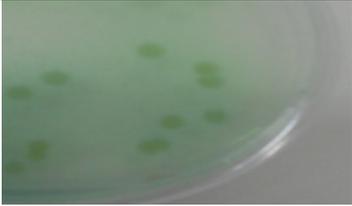
pyoverdine). Cependant, après un certain nombre de repiquages, on a constaté que quelques souches ont perdu cette caractéristique, tout en maintenant la production de l'odeur caractéristique.

Les résultats de l'identification par la galerie biochimique Api 20NE montrent des profils d'assimilation variables des substrats (Tableau 10).

**Tableau 08** : Aspects des colonies de quelques souches isolées sur différents milieux.

Souches de <i>P. aeruginosa</i>	Aspect des colonies	
<b>S5012</b>	*Couleur : mauve *Taille : Grande (3.5mm) *contour : régulier *Centre : opaque, petit *Milieu : Cétrimide	
<b>S5412</b>	Couleur : verte Taille : Grande (1.5mm), large contour : régulier Milieu : Cétrimide	
<b>S5113</b>	Couleur : verte Taille : Grande (2mm), bombé, muqueuse *contour : régulier *Transparente Milieu : Gélose nutritive	
<b>S5611</b>	Couleur : verte Taille : grande (1.5 à 2mm) Contour : irrégulière Centre : bombé, opaque Milieu Héктоèn	

**Tableau 09** : Aspects des colonies de quelques souches testées sur gélose nutritive.

Souches de <i>P. aeruginosa</i>	Aspect des colonies sur gélose nutritive	Photos
S <sub>3514</sub>	Colonies de taille moyenne (0.5-1mm de diamètre),opaque avec contour régulier le plus souvent de forme ovoïde .	
S <sub>3914</sub>	Colonies blanchâtres très petites de forme ronde et régulière (0.1-0.5mm de diamètre), translucide	
S <sub>40214</sub>	colonies rond de taille moyenne (0.5-1 mm), verdâtres, opaques avec contour régulier.	
S <sub>49216</sub>	-des colonies vert fluorescente de grande taille (1-2mm).	
S <sub>5416</sub>	Colonies vertes de grande de taille (1.5mm), large, avec contour régulier.	
S <sub>5516</sub>	Colonies larges, de grande taille (1.5-2mm), rondes avec contour régulier.	

**Tableau 10:** Résultats de détermination des profils d'assimilation de quelques substrats (galerie Api20NE) par quelques souches.

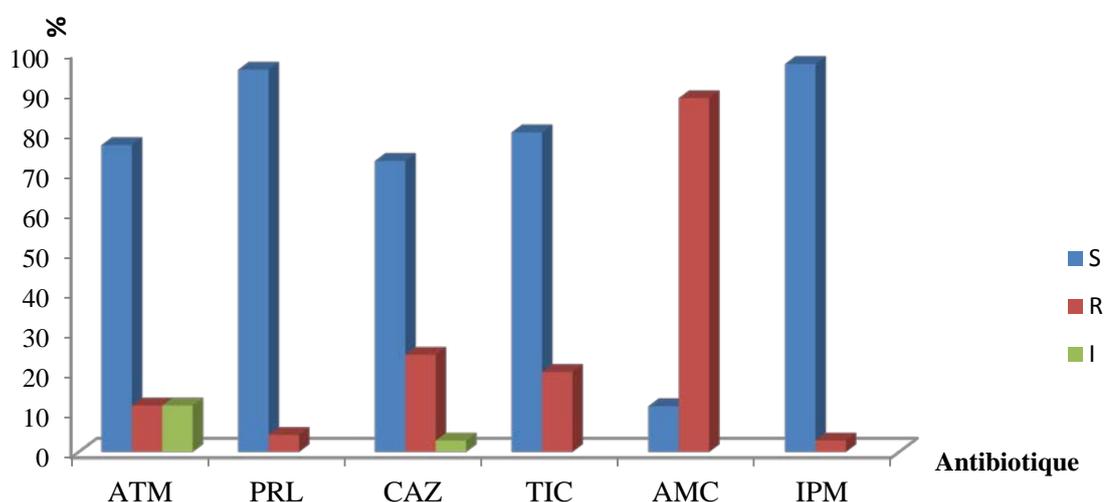
Témoin	
S1135	
S121	
S113	
S1239	
S1355	
S11105	
S1324	

### III.3. Résultats de l'antibiorésistance

Le profil de sensibilité des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques (Annexe 3) a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

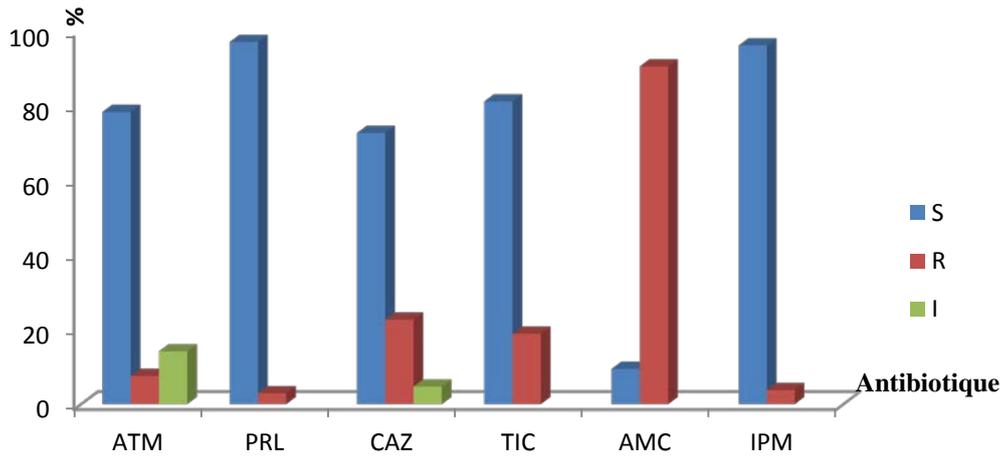
#### III.3.1. Evolution de la résistance aux bêta-lactamines

En 2011 on a pu déterminer le profil de la sensibilité aux bêta-lactamines de 70 souches (Tableau11 ; Annexe 4). La figure 11 montre qu'elles présentent une sensibilité importante à ces antibiotiques, à l'exception de AMC, où les souches sensibles ne présentent que 11% de la totalité des souches testées. La résistance de ces souches est de 24%, 20%, 11%, 4%, 2% pur le CAZ, TIC, ATM, PRL, IPM respectivement



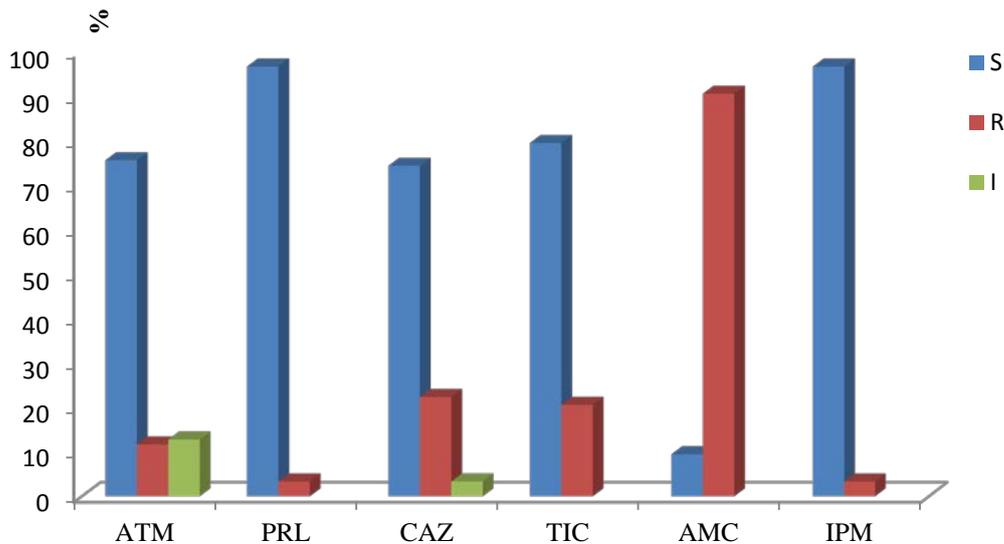
**Figure 11:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2011)

En 2012, 106 ont été testées. Les résultats obtenus (Figure 12, Tableau12 ; Annexe 4) montrent une très faibles différence est observé entre les profils de sensibilité de ces souches et celles collectées en 2011, avec une légère augmentation de 1% à IPM et 2% à AMC. En revanche le taux des souches résistantes aux CAZ, TIC, ATM, PRL a marqué une légère diminution variée entre 1-2%. Le taux des souches ayant une résistance intermédiaire vis-à-vis ATM a montré une augmentation de 3% par rapport à celles collectées en 2011.



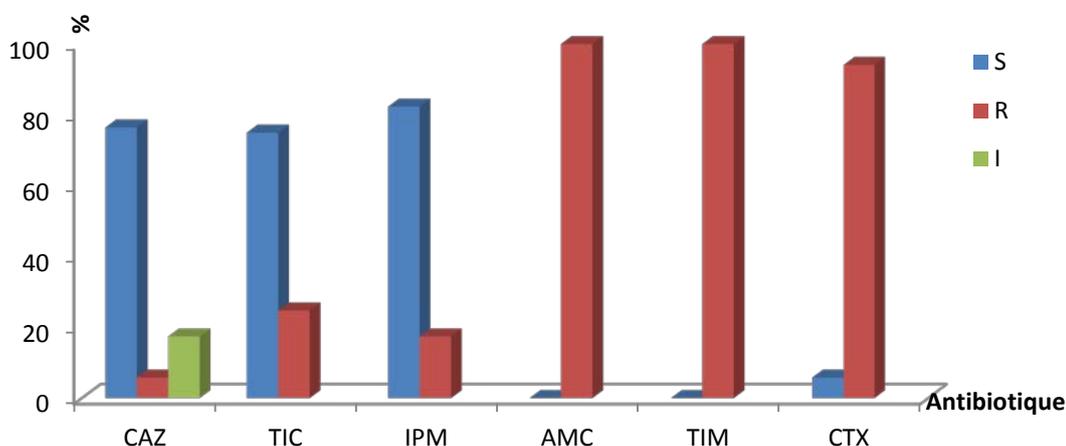
**Figure 12 :** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2012)

La figure 13 (Tableau 13 ; Annexe 4) présente le profil de sensibilité de 180 souches de *P. aeruginosa* testées en 2013. Elle montre d'une part une sensibilité importante aux bêta lactamines testées, à l'exception de l'AMC qui s'avère efficace sur 9% seulement de la totalité des souches testées. D'autre part, des proportions presque égales entre les taux des souches de de catégorie "R" et celles de catégorie "I" pour ATM



**Figure 13:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2013)

En 2016, les résultats de l'antibiogramme des 17 souches testées (Figure 14, Tableau 14 ; Annexe 4) montre une résistante de 100% pour AMC, TIM, et de 94% pour CTX. Cependant les taux de résistance pour CAZ, TIC, IPM sont de 6%, 25%, 17% respectivement.



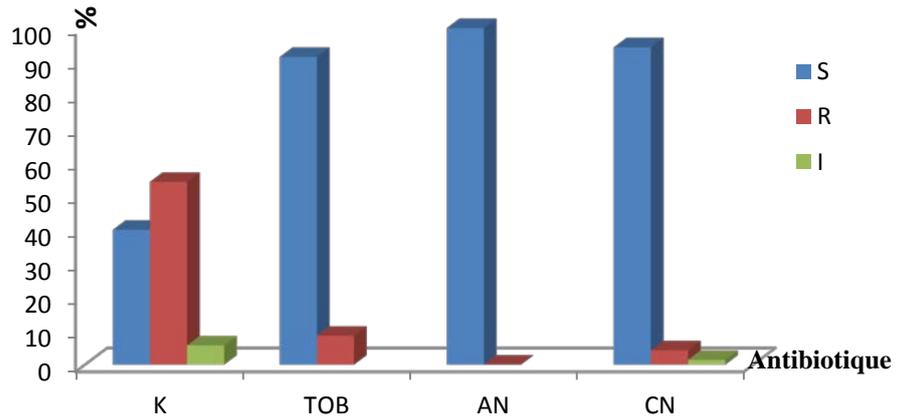
**Figure 14:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Bêta-lactamines (2016)

### III.3.2. Evolution de la résistance aux aminosides

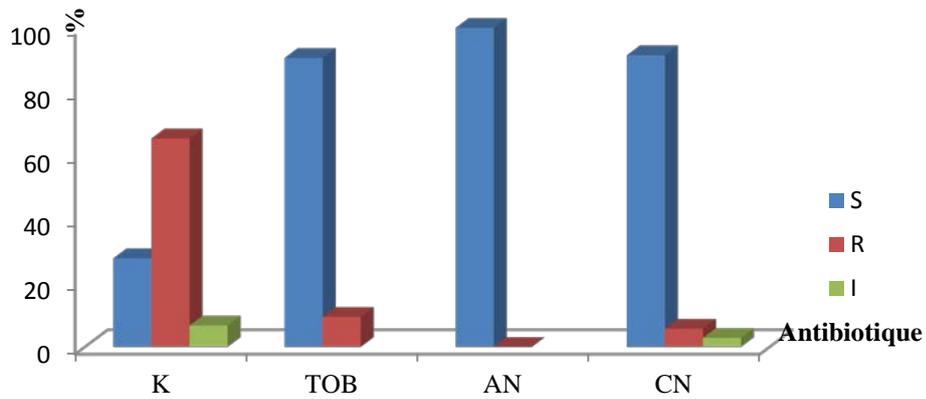
Les résultats de l'antibiogramme des 70 souches testées en 2011 (Figure 15, Tableau 15 ; Annexe 4) montrent que leur sensibilité vis-à-vis de K est inférieure à 50%, contrairement à la TOB et CN qui est de 91% et 94% respectivement. Elle est encore plus importante vis-à-vis AN où la totalité des souches est sensible (100%).

Les résultats de l'antibiogramme des 106 souches testées en 2012 (Figure 16, Tableau 16 ; Annexe 4) montrent que seulement le un quart ( $\frac{1}{4}$ ) des souches testées est sensible au K, avec un pourcentage égale à 27%, et que la sensibilité à la TOB, CN et AN est de 90%, 91% et 100% respectivement.

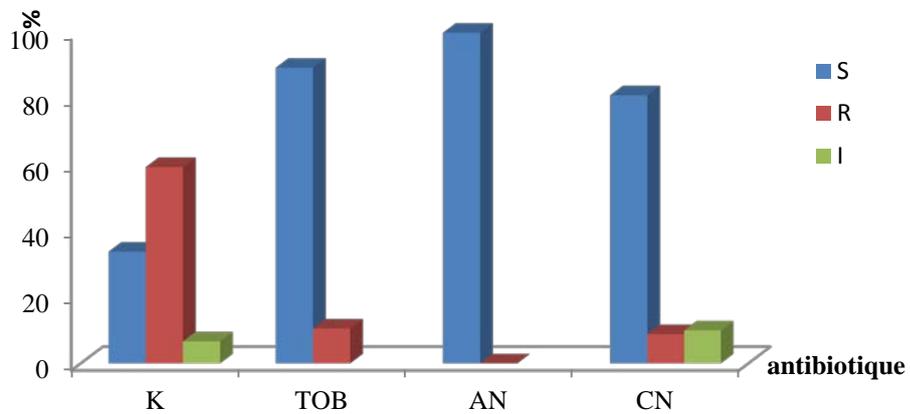
L'analyse de profils de sensibilité des 180 souches testées en 2013 (Figure 17, Tableau 17 ; Annexe 4) montre que, le taux des souches sensibles à la K est de 34%, à la TOB est 89% et à la CN est de 81%, par contre, toutes les souches (100%) sont sensibles à AN.



**Figure 15:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2011)

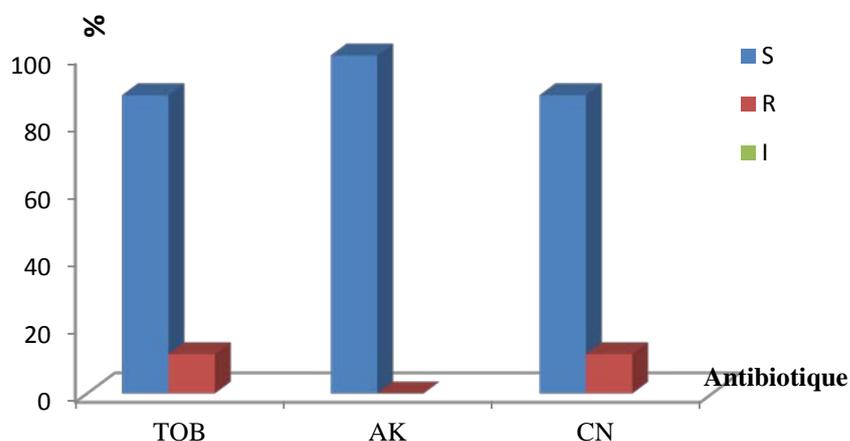


**Figure16:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2012)



**Figure 17:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des Aminosides (2013)

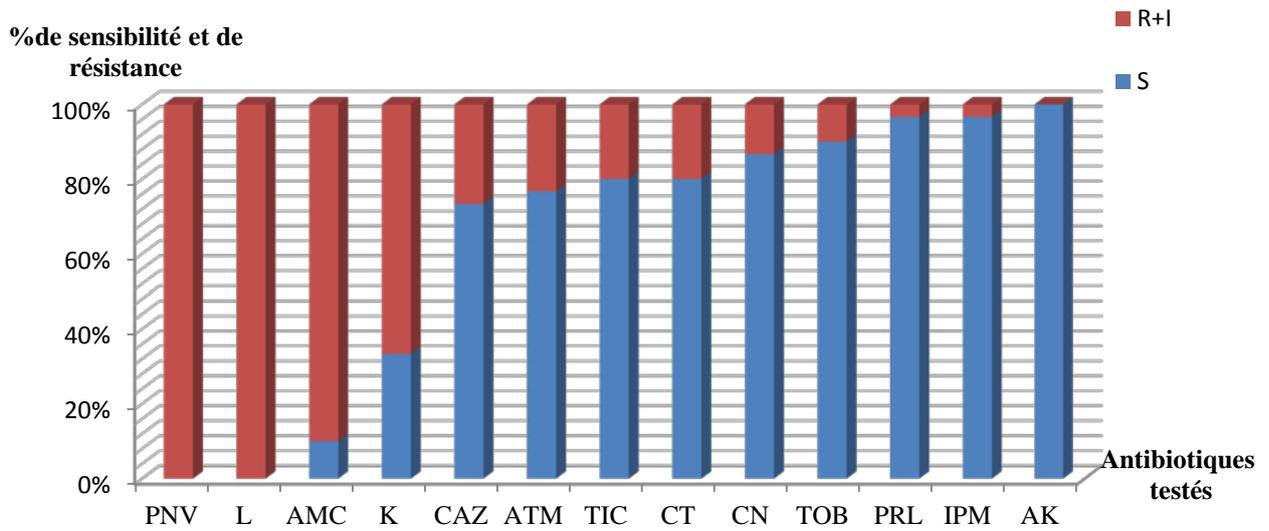
Les résultats de l'antibiogramme des 17 souches testées en 2016 (Figure 18, Tableau 14 ; Annexe 4) montrent que la totalité des souches testées est sensible à AN (100%), alors que le taux de sensibilité à la TOB et CN est de 88% pour chacun.



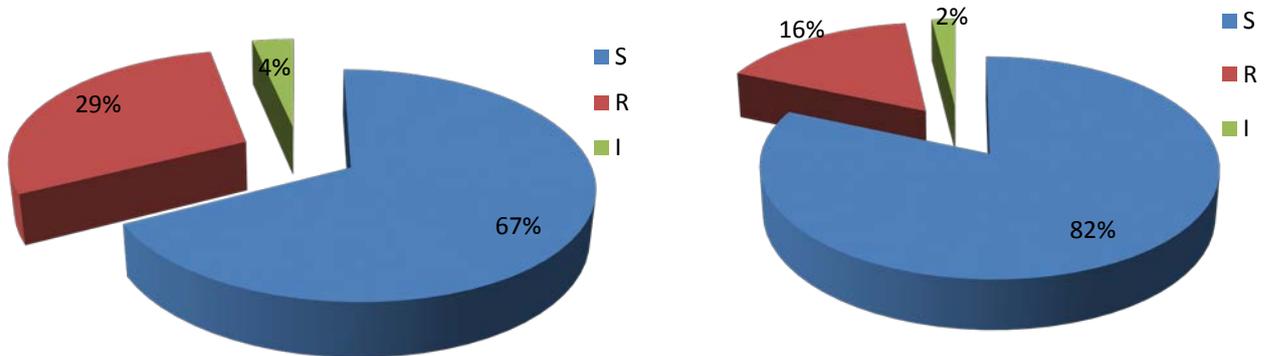
**Figure 18:** Profils de sensibilité des souches testées vis à vis des aminosides (2016)

Les résultats de l'antibiogramme des 356 souches testées entre 2011 et 2013 montrent qu'elles ont des profils de sensibilité variables (Figure 19, Planche 01). Leur sensibilité aux bêta-lactamines est estimée à 67% (Figure 20), 90% d'entre elles sont résistantes à l'Amoxicilline+acide clavulanique (AMC). En revanche, les taux de résistance à la ceftazidime (CAZ), l'Aztreoname (ATM) est inférieurs à 30%. Le plus faible taux de résistance est observé pour le pipéracilline et l'imipénème avec un taux de 3.3%. En générale, nous notons que la résistance de nos souches aux  $\beta$ -lactamines est faible avec un taux de 33%(R+I) (Figure 20). Elle est encore plus faible vis à vis les aminosides (18%) avec des profils variables (Figure 21), seulement 13.3% des souches testées sont résistantes à la gentamicine (CN) et 10% à la tobramycine (TOB). L'Amikacine (AN) a révélé une efficacité absolue sur toutes les souches.

La comparaison des taux de souches résistantes aux bêtalactamines, entre 2011, 2012 et 2013 montre une augmentation de la résistance au ceftazidime avec une différence de 17.6%. Alors qu'on n'a pas observé une variation de la résistance à l'imipénème qui a présenté le plus faible taux de résistance (3.3%).

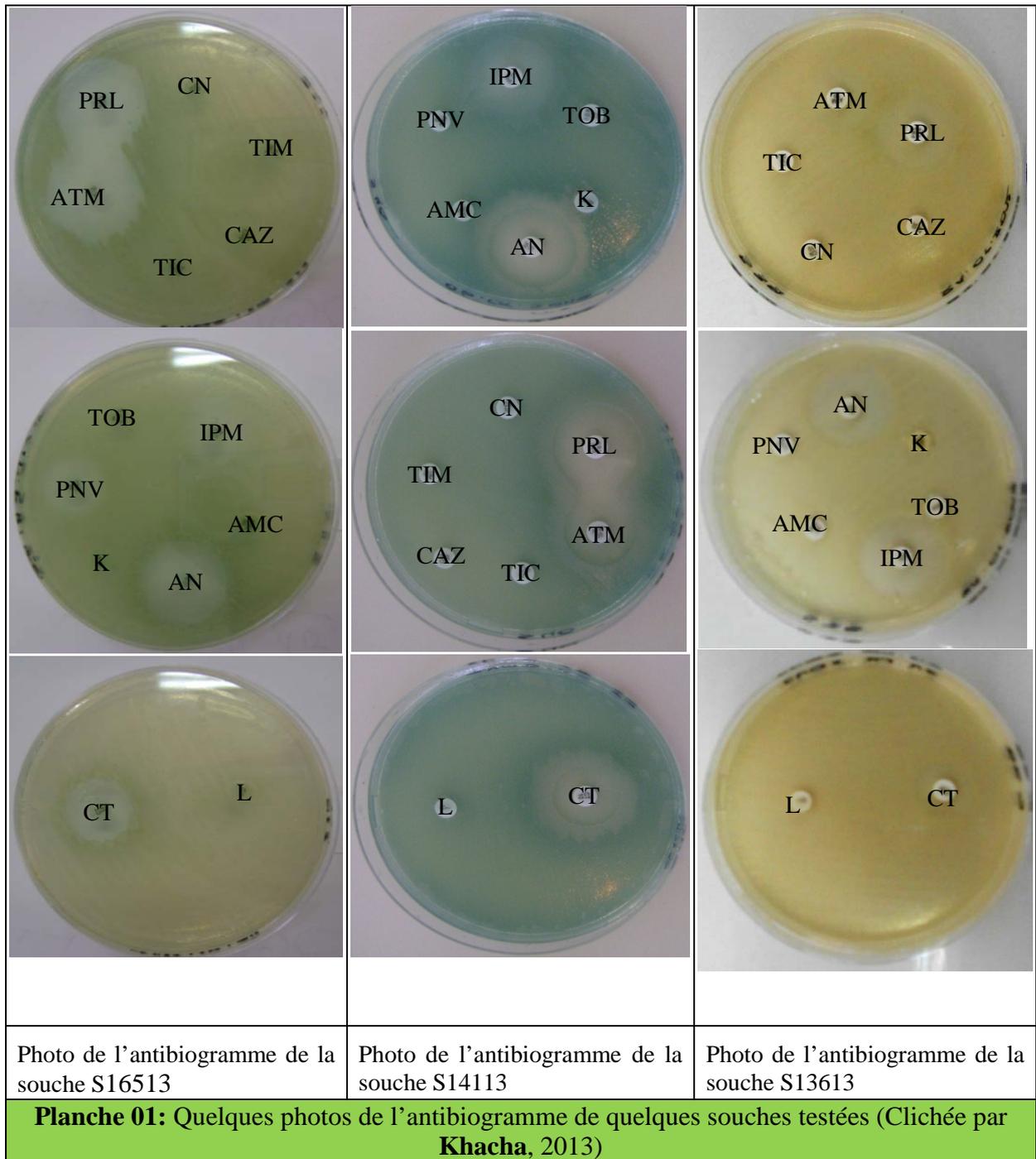


**Figure 19:** Profils des sensibilités aux antibiotiques de la totalité des souches collectées entre 2011-2013.



**Figure 20:** profils de sensibilité de la totalité des souches aux bêta-lactamines (2011-2013)

**Figure 21:** Profils de sensibilité de la totalité des souches aux aminosides (2011-2013)



En 2014, 17 souches résistantes ont été trouvées. Leurs profils de sensibilité (tableau18 ; Annexe 4) montrent la présence de deux souches résistantes à AN. Ces dernières sont proviennent de l'hôpital d'Ibn roche de Souk Ahras.

En 2016, 17souches ont été testées (Tableau14 ; Annexe 4), leurs comportements à l'égard des bêta-lactamines montrent la présence de 7 souche avec haut niveau de résistance aux

bêta-lactamine ; ce qui présente un pourcentage de 41.17% de la totalité des souches testées et qui présentent l'ensemble des souches isolées dans cet hôpital.

### III.3.3. Résultats de l'Antiseptogramme

Les résultats de l'antiseptogramme (Planche 02) ont montré des zones d'inhibition de 25mm jusqu'à 45mm pour l'eau oxygénée à 10 volume, entre 7 à 20mm pour l'alcool iodé à 10 % et seulement de 6 à 15mm pour l'alcool chirurgical à 70°.

Les résultats de la recherche des concentrations inhibitrices de l'eau chlorée (eau de Javel à 13°Chl) montrent que les souches testées peuvent tolérer des concentrations allant jusqu'à 0.5%. Les concentrations de 0.125, 0.25 n'ont montré aucun effet sur les souches testées. 20% de ces dernières ont été inhibées par une concentration de 0.5% du désinfectant testé, mais seulement par un effet bactériostatique ; car les boîtesensemencées à partir des tubes négatifs (absence de trouble) ont présenté une culture positive après 24h d'incubation.

A partir de la concentration de 1%, l'eau chlorée a montré une activité inhibitrice pour la totalité des souches testées. (Figure 22, Planche 03) dont 13.3% d'entre elles restent viables et présentent une croissance positive sur milieu solide après 24heures d'incubation à 37°C.

Par ailleurs 6.6% des souches testées ont supporté la concentration de 2% et ont présenté une croissance sur milieu solide après 24heures d'incubation (Figure 23, Planche 03). Donc cette concentration est bactéricide pour 93% des souches testées.

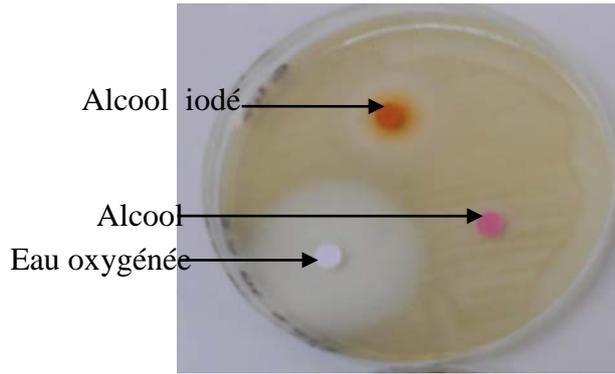


Photo de l'antiseptogramme de la souche S1513



Photo de l'antiseptogramme de la souche S16513

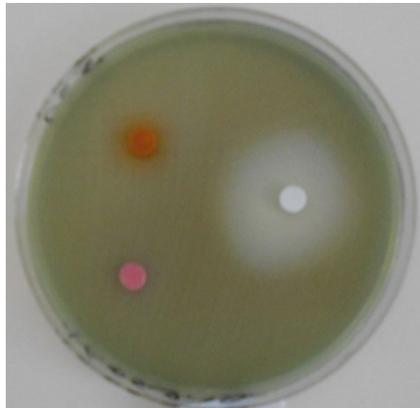


Photo de l'antiseptogramme de la souche S14113

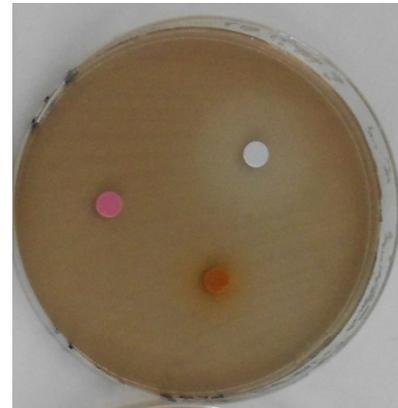


Photo de l'antiseptogramme de la souche S13613

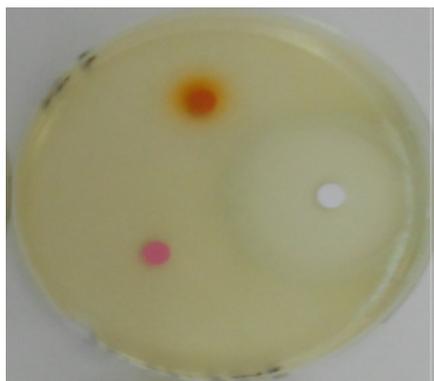
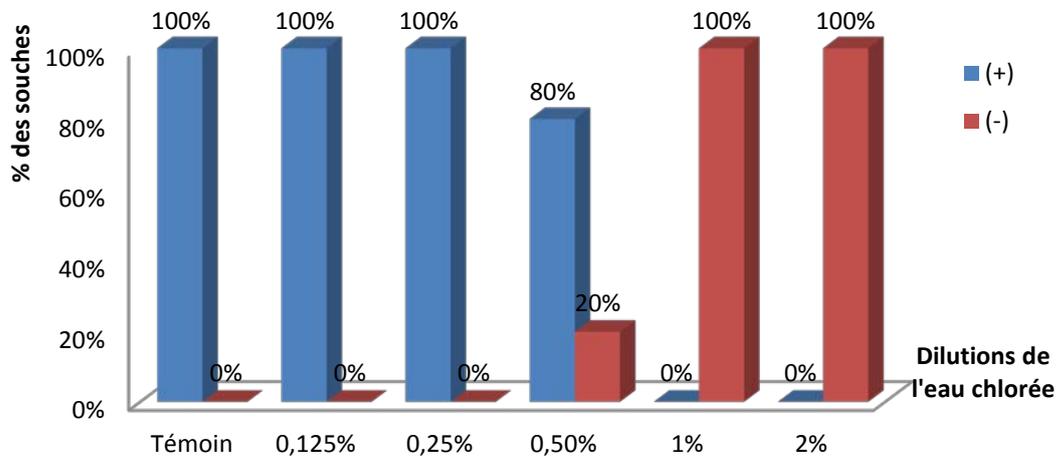


Photo de l'antiseptogramme de la souche S13213

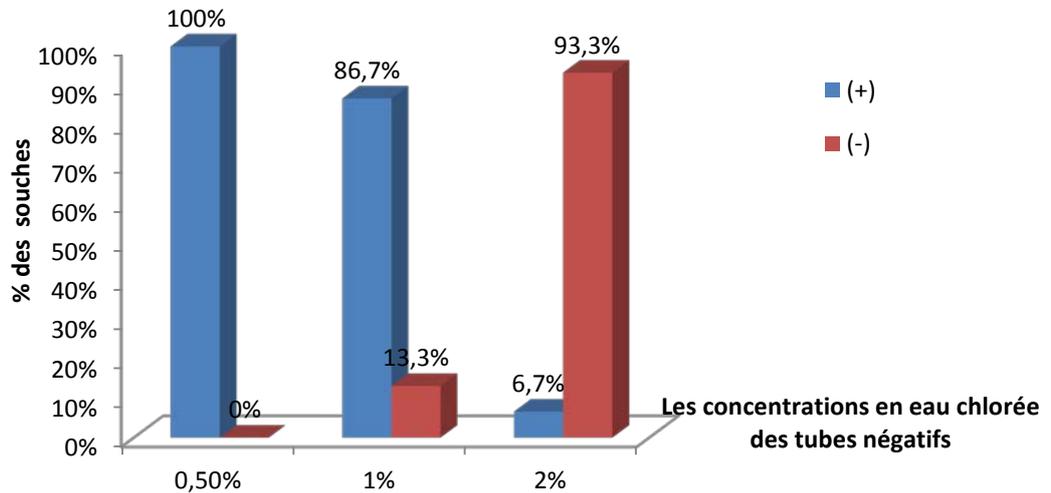


Photo de l'antiseptogramme de la souche S13513

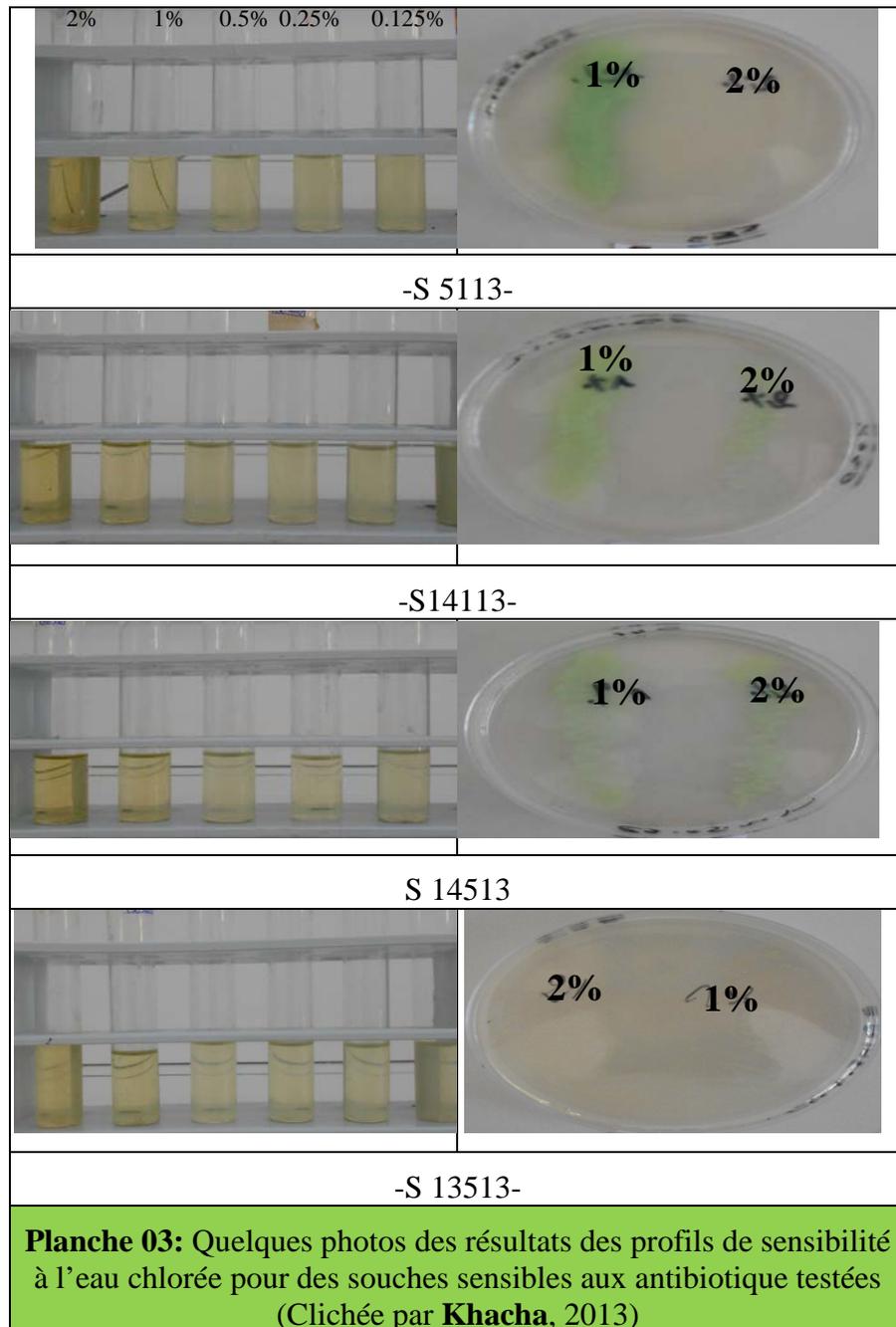
**Planche 02:** Quelques photos de l'antiseptogramme de quelques souches (Clichée par **Khacha**, 2011-2013)



**Figure 22:** Profils de sensibilité des souches testées aux différentes concentrations de l'eau chlorée



**Figure 23:** Résultats de confirmation de l'inhibition par l'eau chlorée sur milieu solide (+: croissance=effet bactériostatique, -: pas de croissance=effet bactéricide)



La comparaison des résultats de l'antibiogramme et ceux de l'antiseptogramme n'a pas montré une corrélation entre la résistance aux antibiotiques testés (aminosides et bêtalactamines) et celle aux antiseptiques ou à l'eau chlorée. Car des souches tososensibles aux antibiotiques ont montré une sensibilité égale à 1% à l'eau chlorée et sont inhibées par l'alcool chirurgical à 70° et l'alcool iodé. De même des souches résistantes aux antibiotiques testées se sont révélées plus sensibles aux antiseptiques. En outre, quelques souches sensibles aux antibiotiques ont montré une résistance même aux antiseptiques les plus utilisés avec une tolérance à des concentrations de l'ordre de 2% de l'eau chlorée à 13°.

### III.3.4. Phénotypes de résistance

Les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines (Tableau 20; Annexe 5) et aux aminosides (Tableau 21 ; Annexe 5) des souches testées ont été déterminé selon Faucher (1997).

Les résultats de l'antibiogramme des souches collectées a permis de caractériser différents phénotypes de résistances aux bêta-lactamines (Tableau 19). 269(70.78%) souches sensibles ; de classe 1 Céphalosporinase naturelle (Case nature inductible), 13(3.42%) souches de phénotype 2 ; ont un mécanisme de résistance Pénicillinase de haut niveau (Pase HN) et 10 (2.63%) de phénotype 3 ; uréidopénicillines (Uréido) ; avec un mécanisme d'imperméabilité. Une souche (0.26%) de phénotype 5 ; Céphalosporinase de haut niveau (Case HN) et 5 (1.31%) souches de phénotype 7 ; Impipénèmase.

Notre étude a également révélé que 81(21.31%) souches, ayant une résistance égale ou supérieure à l'égard de la moitié des familles ou des sousfamilles des antibiotiques testées, présentent un phénotype de résistance non déterminé selon le tableau de **Fauchère (1997)** (Tableau 20; Annexe 5)

**Tableau 19: Phénotypes de résistance des souches collectées de *P. aeruginosa* aux β-lactamines**

	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>TIC</b>	S	R	R	R	R	S	R	
<b>PIP</b>	S	R	S	R	R	S	R	
<b>CAZ</b>	S	S	S	S	R	S	R	
<b>ATM</b>	S	S	R	R	R	S	R	
<b>IMP</b>	S	S	S	S	S	R	R	
Mécanisme de résistance	Case nature inductible	Pase HN	Imperméabilité	Imperméabilité	Pase HN Case HN	Imperméabilité sélective OprD2	Impipénèmase	<b>Non déterminé</b>
sensibilité	Carbox Uréido	CAZ ATM	Uréido	CAZ	IPM	Uréido	/	
Effectif %	269 (70.78)	13 (3.42)	10 (2.63)	/	1 (0.26%)	1 (0.26%)	5 (1.31%)	81 (21.31%)

Vis-à-vis les aminosides, on a pu déterminer les phénotypes de 05 souches seulement. On a

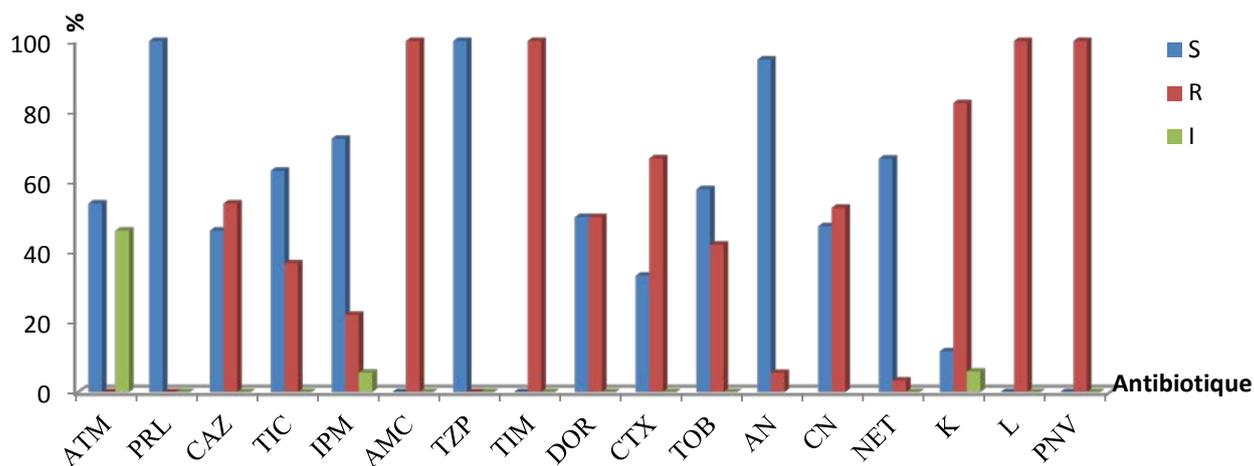
pu déterminer le phénotype de 05 souches seulement (Tableau 22). 2 présentent un profil qui nous a orienté qu'elles peuvent posséder Aminositides acétyl transférase de type AAC(3)-III ou Aminositides nucléotidyl transférase ANT(2''), 2 présentent un profil les attribuer un phénotype Aminositides acétyl transférase AAC(3)-IV-V ou Aminositides acétyl transférase AAC(6')-II. Les autres souches présentant des phénotypes non déterminés

**Tableau 22 : Phénotypes de résistance des souches collectées de *P. aeruginosa* aux aminositides**

	CN	TOB	NET	AN	nombre	Phénotype de résistance
2011	R	R	/	S	4	Non déterminée
2012	R	R	/	S	7	Non déterminée
2013	R	R	/	S	16	Non déterminée
2014	R	R	S	S	2	AAC(3)-III/ ANT(2'')
	R	R	R	S	2	AAC(3)-IV-V/ AAC(6')-II
	R	S	S	S	1	AAC(3)-I
	R	S	R	R	2	
	R	S	R	S	1	
	S	R	S	S	1	Non déterminée
2016	S	S	R	S	1	
	R	R	/	S	2	Non déterminée

### III.3.5. Résultats de la recherche des BLSE

Les BLSE ont été recherché chez les souches résistantes ou montrant une diminution de la zone d'inhibition pour les bêta-lactamines sur antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé. En effet parmi 111 souches, 57 souches sont productrices de ces enzymes par le test de synergie chez une seule souche dont le profil de résistance est TIM®, TZP(S), TIC(S), AMC®, K®, TOB(S), IPM(S), AN (S), CN®, NET(S), DOR(S), CTX(S). Chez les autres souches la présence de cette enzyme est mise en évidence par le test de confirmation par double disque. Les profils de sensibilité des souches choisies pour la recherche des BLSE sont présentés dans la figure 24.



**Figure 24:** Profils de sensibilité des souches choisies pour la recherche des BLSE

### III.3.6. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices

Les concentrations inhibitrices des antibiotiques testés ont été déterminées pour les souches résistantes. N'ayant pas été ni repiquées ni conservées et en cas des résultats douteux ; avec de valeurs élevés, on répète l'expérience trois fois. Les antibiotiques choisis pour cette étude sont l'imipénème l'amikacine et la gentamycine ; qui sont des antibiotiques à usage hospitalier.

#### III.3.6.1. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices des aminosides

En 2011, Les concentrations minimales inhibitrices et celles bactéricides de l'amikacine et la gentamycine ont été déterminées pour cinq souches (Tableau 23 ; Annexe 6). Les résultats consignés dans le Tableau 24, montrent que les CMI de l'AN sont comprises entre 0.195mg/l et 5 mg/l ; avec une moyenne de  $\bar{x}=2.35\text{mg/l} \pm 1,75 \text{ mg/l}$ . Ce qui signifie que ces souches sont sensibles à cet aminoside. Les rapports CMB/CMI montrent qu'il est bactériostatique pour deux souches, deux autres souches montrent une tolérance à cet antibiotique ; avec des rapports CMB/CMI=32 et il n'est bactéricide que pour une seule souche ; dont la valeur de CMI est relativement élevée par rapport aux autres souches testées ; donc c'est la souche la plus résistante.

Les CMI de la gentamicine des souches testées en 2011 ; sont comprises entre 3.2 mg/l et 1024 mg/l ; avec une moyenne  $\bar{x}=402,88 \pm 456,22 \text{ mg/l}$ . Deux souches (S3511 et S5411) sont inhibées à une concentration inférieure ou égale à 3.2mg/l. Les rapports CMB/CMI de ces dernières sont de l'ordre de 16. Donc la gentamycine montre un effet bactériostatique sur ces deux souches qui s'avèrent sensibles à cet aminoside (Tableau23 ; Annexe 6).

## Résultats

Les trois autres souches présentent des CMI de 256mg/l, 728 mg/l et 1024 mg/l. Pour les deux dernières, les valeurs des rapports CMB/CMI sont égales à 2. Ce qui montre un effet bactéricide. Mais pour la première souche, il est égal à 8. Ce qui correspondant à un effet bactériostatique. Cependant, les résultats de l'antibiogramme, par diffusion sur milieu gélosé, montrent que ces trois souches sont résistantes à cet antibiotique.

**Tableau 24 : Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2011**

souches Concentration	AN			CN		
	16≥CMI≥32			04≥CMI≥08		
	S	I	R	S	I	R
	CMI	CMB	CMB/ CMI	CMI	CMB	CMB/ CMI
<b>S4211</b>	≥2.5	25	10	≥1024	2048	2
<b>S5411</b>	≥2.5	80	32	≥3.2	102.4	16
<b>S3511</b>	≥1.56	3.12	02	≥3.2	51.2	16
<b>S15511</b>	≥5	80	16	≥256	2048	8
<b>S7911</b>	≥0.195	6.25	32	728	1456	02

Les résultats de la détermination des valeurs des CMI de l'AN (Tableau 25) pour les 13 souches choisies en 2012 (Tableau 26 ; Annexe 6); montrent qu'elles sont comprises entre 0.195mg/l et 32mg/l avec une moyenne de  $\bar{X}=4.28\text{mg/l}\pm 8,55\text{mg/l}$ . Les valeurs des rapports CMB/CMI montrent que cet antibiotique a un effet bactéricide pour trois (3/13=0.23) souches seulement. 4/13(0.30) des souches ont été inhibées avec un effet bactériostatique. Les autres souches testées durant cette année (6/13=0.46) tolèrent cet antibiotique ; avec des rapports CMB/CMI=32.

Les valeurs des CMI de CN sont comprises entre 3.2 mg/l et 1024 mg/l ; avec une moyenne  $\bar{X}= 246,51\pm 449,96 \text{ mg/l}$ . La moyenne des souches sensibles est  $\bar{X} =3,22\pm 0,50\text{mg/l}$  et celle des souches résistantes est  $\bar{X} =616,33\pm 508,15\text{mg/l}$ . Les valeurs des rapports CMB/CMI montrent que cet antibiotique est bactéricide pour quatre souches (4/13=0.30), alors qu'il est

bactériostatique pour les autres. En outre, aucune souche n'a montré une tolérance à cet antibiotique.

**Tableau 25 : Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2012**

souches Concentration	AN 16 $\geq$ CMI $\geq$ 32			CN 04 $\geq$ CMI $\geq$ 08		
	S	I	R	S	I	R
	CMI	CMB	CMB/ CMI	CMI	CMB	CMB/ CMI
<b>S3112</b>	$\geq 0.195$	6.25	32	1024	2048	2
<b>S3212</b>	$\geq 0.195$	6.25	32	256	2048	8
<b>S10312</b>	$\geq 1.56$	3.12	02	3.2	51.2	16
<b>S1412</b>	$\geq 2$	25	10	728	1456	2
<b>S11412</b>	$\geq 2$	64	32	3.2	102.4	16
<b>S2512</b>	$\geq 1.56$	3.12	02	2.57	41.2	16
<b>S10512</b>	$\geq 32$	576	16	25.75	204	8
<b>S17512</b>	$\geq 8$	128	16	25.6	204.8	8
<b>S24512</b>	$\geq 2$	64	32	4	64	16
<b>S24512(2)</b>	$\geq 2$	64	32	8	128	16
<b>S3612</b>	$\geq 1.56$	3.12	02	3.2	51.2	16
<b>S13912</b>	$\geq 0.195$	6.25	32	1024	2048	2
<b>S41012</b>	$\geq 2.5$	25	10	1024	2048	2

En 2013, les concentrations inhibitrices (CMI, CMB) de l'amikacine et de la gentamycine ont été déterminées pour 21 souches. Les résultats du tableau 27, montre que les valeurs des CMI de l'AN sont comprises entre 0.19mg/l et 32mg/l avec une moyenne de  $\bar{X}=12.33$ mg/l. Les valeurs des rapports CMB/CMI montrent qu'il est bactéricide que sur 5 (5/21=0.23) souches, bactériostatique sur 9(9/21=0.42) et 7 (7/21= 0.33) se montrent tolérantes. Les résultats de détermination des CMI montrent que neuf souches présentent une résistance intermédiaire

dont les valeurs sont comprises entre 16mg/l et 32mg/l. Ces souches sont caractérisées comme sensibles à l'amikacine par la méthode des disques (Tableau 28 ; Annexe 6) ; nous notons une faible diminution des zones d'inhibition mais les diamètres sont très loin d'être ceux de la catégorie intermédiaire ou résistante.

Les résultats du tableau 27, montrent que les valeurs des CMI de CN sont comprises entre 2.5mg/l et 1024mg/l, avec une moyenne  $\bar{X}=239,66\pm 376,37$ mg/l. La moyenne des CMI des souches sensibles  $\bar{X}=3,11\pm 0,54$ mg/l et celle des souches résistantes (R+I)  $\bar{X}=317,77\pm 410,84$ mg/l.

Ces résultats montrent aussi que les souches S5113, S13513 et S14513 qui sont classées dans la catégorie intermédiaire sur milieu gélosé, présentent des valeurs de CMI de 8mg/l, 8mg/l, 22mg/l successivement. Les rapports CMB/CMI montrent que cet antibiotique est bactériostatique vis-à-vis ces souches. En outre, il n'est bactéricide que sur sept (7/21=0.33) souches, alors qu'aucune souche ne montre une tolérance à son égard.

En 2014, sur un total de 17 souches résistantes, on a réussi à déterminer les concentrations inhibitrices de 10 souches résistantes et une souche sensible (S114) (Tableau 18). Ces souches présentent des diminutions des zones d'inhibition et/ou montrent une résistance ; au moins ; à la moitié des antibiotiques testées (antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé). Les résultats (Tableau 29), montrent que les concentrations minimales inhibitrices de l'amikacine sont comprises entre 6.4mg/l et 128mg/l ; avec une moyenne  $\bar{X}=34,66\pm 39,04$ mg/l.

Les CMI des souches S1014, et S914 sont 128mg/l et 80mg/l successivement ; avec une moyenne  $\bar{X}=104\pm 33,94$ . Les résultats de l'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé montrent qu'elles sont résistantes à cet antibiotique (Tableau 17 ; Annexe 3). Les rapports CMB/CMI montrent que cet antibiotique est bactériostatique vis-à-vis des deux souches.

Les autres souches testées durant cette année, et qui sont caractérisées comme étant des souches sensibles par la méthode de diffusion sur milieu gélosé présentent des CMI comprises entre 6.4mg/l et 32mg/l ; avec une moyenne  $\bar{X}=17,32\pm 10,7$ mg/l. Les valeurs des rapports CMB/CMI montrent que cet antibiotique n'est bactéricide que pour les souches : S614, S1014 et S1214.

Les valeurs des rapports CMB/CMI montrent que quatre souches présentent des CMI comprises entre 16mg/l et 20mg/l tolèrent cet antibiotique (CMB/CMI=32).

**Tableau 27: Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2013**

Souches	AN 16≥CMI≥32			CN 04≥CMI≥08		
	S	I	R	S	I	R
	CMI	CMB	CMB/ CMI	CMI	CMB	CMB/ CMI
<b>S4113</b>	≥2	25	12	102.4	204.8	2
<b>S5113</b>	≥1.56	3.12	02	8	128	16
<b>S14113</b>	≥12	128	10	628	1254	2
<b>S30313</b>	≥32	512	16	256	2048	8
<b>S1413</b>	≥2.5	25	10	102.4	204.8	2
<b>S1513</b>	≥25	800	5	8	128	16
<b>S30113</b>	≥0.195	6.25	32	1024	204.8	2
<b>S13213</b>	≥1.56	3.12	02	3.2	51.2	16
<b>S15213</b>	≥20	640	32	2.56	41.8	16
<b>S5313</b>	≥1.56	3.12	02	2.5	40.6	16
<b>S15313</b>	≥1.56	3.12	02	3.2	51.2	16
<b>S19313</b>	≥0.195	6.25	32	1024	2048	2
<b>S10413</b>	≥25	250	10	1024	2048	2
<b>S16413</b>	≥2.5	80	32	3.2	102.4	16
<b>S17413</b>	≥20	640	32	4	65	16
<b>S13513</b>	≥1.56	3.12	02	8	128	16
<b>S14513</b>	≥25	800	32	22	354	16
<b>S16513</b>	≥32	512	16	26	208	8
<b>S13613</b>	≥0.195	6.25	32	628	1254	2
<b>S15613</b>	≥25	408	16	25.6	204.8	8
<b>S191013</b>	≥5	80	16	128	1024	8

**Tableau 29: Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches isolées en 2014**

Souches	AN			CN		
	16≥CMI≥32			04≥CMI≥08		
	S	I	R	S	I	R
CMI	CMB	CMB/ CMI	CMI	CMB	CMB/ CMI	
S114	≥2	6.4	3			
S214	≥32	256	8	≥32	512	16
S314	≥128	1024	8	≥32	128	4
S414	25	125	5	160	1280	8
S514	20	640	32	≥12.8	12.8	1
S614	≥6.4	25.6	4	≥12.8	51.2	4
S814	≥12.8	102.4	8	≥32	512	16
S914	80	640	8	≥32	128	4
S1014	20	80	4	≥256	2048	8
S1114	16	512	32	≥12.8	12.8	1
1214	≥6.4	25.6	4	14	56	4

Le tableau 30, montre que les CMI de l'amikacine, des souches isolées en 2016, sont comprises entre 2 mg/l et 8mg/l avec une moyenne de 2.94±1.6mg/l. Celles de la gentamycine sont comprise entre 1 mg/l et 16 mg/l avec une moyenne  $\bar{X}=2,82\pm4,96$ mg/l. Seulement 2 souches sont incluses dans la catégorie R (résistantes) avec des CMI≥16mg/l. On a remarqué aussi qu'elles ont des résistances variables aux antibiotiques testées, à l'exception de l'amikacine ; qui montre une efficacité sur la totalité des souches isolées.

Les résultats de ce tableau nous ont permis de constater que les CMI de ces deux souches (résistantes à la gentamicine) ; sont les plus élevées.

Les concentrations inhibitrices de sept souches ayant un haut niveau de résistance aux bêtalactamines ; ont été déterminées par la méthode de microdilution en milieu liquide.

Les résultats du tableau 31, montrent que le rapport CMB/CMI de NA est de 32 pour la souche **S6716**, ce qui indique qu'elle tolère cet antibiotique dont l'effet est bactériostatique sur les souches S26116, S3216 et S231116(2) ; avec une valeur de CMB/CMI= 16, alors qu'il est bactéricide vis-à-vis les autres souches.

Les valeurs des rapports CMB/CMI de la gentamicine montrent qu'il est bactériostatique que vis-à-vis les souches S3216, S6716 et S231116(2), et bactéricide pour les autres souches.

**Tableau 30: Concentrations inhibitrices des aminosides des souches isolées en 2016  
(résultats du VITEK)**

souche	CMI	CMI de
	d'amikacine	gentamicine)
	AN	CN
S22116	≤2	≤1
S26116	4	≤1
S3216	4	≤1
S6416	≤2	≤1
S6716	8	≥16
S13716	≤2	≤1
S16816	≤2	≤1
S5916	≤2	≤1
S41016	≤2	≤1
S211016	4	≤1
S271016(1)	4	≤1
S271016(2)	≤2	2
S31116	≤2	≤1
S231116(1)	≤2	≤1
S231116(2)	4	≥16
S31216	≤2	≤1
S131216	≤2	≤1

**Tableau 31:** Concentrations inhibitrices de l'amikacine et de gentamycine des souches choisies en 2016

souches	AN			CN		
	16≥CMI≥32			04≥CMI≥08		
	S	I	R	S	I	R
	CMI	CMB	CMB/ CMI	CMI	CMB	CMB/ CMI
S26116	4	64	16	1	4	4
S3216	4	64	16	1	8	8
S6716	8	256	32	128	1024	8
S41016	2	8	4	1	2	2
S211016	4	8	2	1	2	2
S271016(1)	4	4	1	1	2	2
S231116(2)	4	64	16	25.6	204.8	8

### III.3.6.2. Résultats de détermination des concentrations inhibitrices des bêta-lactamines

En 2011 on a pu déterminer les valeurs inhibitrices de 5 souches. Les résultats du tableau 32, montrent que les valeurs des CMI de IMP varient entre 0.36mg/l et 11.5mg/l avec une moyenne  $\bar{X}=3.46\pm 4,58\text{mg/l}$ . Une seule souche (S15511) a présenté une CMI de 11.5 mg/l, et selon les résultats de tableau de l'antibiogramme (Tableau 23 ; Annexe 6) elle se révèle résistante à l'imipénème. La moyenne des autres souches ; qui sont caractérisées comme sensibles selon les résultats de l'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé ; est  $\bar{X}=1,45\pm 1,04\text{mg/l}$ .

Par ailleurs, cet antibiotique a montré un effet bactéricide seulement vis-à-vis la souche S15511 ; avec un rapport CMB/CMI=1.

Nous notons aussi que la CMI de la souche S4211 est 2.87mg/l, ce qui l'inclue dans la catégorie intermédiaire, alors que le diamètre d'inhibition de l'antibiogramme lui confère une sensibilité vis-à-vis cet antibiotique (Tableau 23 ; Annexe 6). Le rapport CMB/CMI de cette souche et celui de la souche S7911 est égal à 32 ; donc elles tolèrent cet antibiotique. Les valeurs inhibitrices de la souche S3511 sont les plus faibles (CMI=0.36mg/l, CMB=5.75mg/l) ; mais le rapport CMB/CMI est de 16 ; ce qui montre un effet bactériostatique de IPM à son égard.

En 2012, on a pu déterminer les concentrations inhibitrices de l'IPM pour treize souches. Les valeurs des CMI de cet antibiotique sont comprises entre 0.32mg/l et 115mg/l avec une moyenne  $\bar{X}=11,34\pm 31,26\text{mg/l}$  (Tableau 33)

**Tableau 32: Concentrations inhibitrices de l'imipenème pour des souches isolées en 2011**

souches	IPM (Imipenème)		
	8 <CMI< 2		
	R	S	
	CMI	CMB	CMB/ CMI
S4211	2.87	92.1	32
S5411	1.15	92.1	8
S3511	0.36	5.75	16
S15511	11.5	11.5	1
S7911	1.43	46	32

Les résultats de ce tableau montrent aussi que les souches S10512, S17512 préalablement catégorisées résistantes (Tableau 26 ; Annexe 6) présentent les CMI les plus élevées vis-à-vis de l'imipenème et qui sont égales à 11.5mg/l et 115mg/l successivement ; avec une moyenne de  $\bar{X}=63,25\pm 73,18\text{mg/l}$ . En parallèle les résultats par diffusion sur milieu gélosé montrent qu'elles sont résistantes à cet antibiotique. En revanche, celles sensibles présentent une moyenne  $\bar{X}_{\text{CMI}}=1,90\pm 0,79\text{mg/l}$ .

Les rapports CMB/CMI montrent qu'il est bactéricide sur deux souches résistantes (CMB/CMI=1), bactériostatique sur 6 souches et que quatre souches sont tolérantes avec un rapport CMB/CMI=32.

En 2013, on a déterminé les concentrations inhibitrices de l'imipenème de 21 souches. Ces dernières présentent des CMI variant entre 0.36mg/l et 115mg/l avec une moyenne  $\bar{X}=9,51\pm 25,1\text{mg/l}$  (tableau 34). Parmi ce lot, les souches S16513, S30313, S15613 et S191013 ; considérées comme résistantes par diffusion sur milieu gélosé (Tableau 28 ; Annexe 5), présentent des CMI comprises entre 11.5mg/l et 115mg/l avec une moyenne  $\bar{X}=31,70\pm 48,68\text{mg/l}$ . Les CMI des 17 autres souches sont comprises entre 0.36mg/l et 4.7mg/l, avec une moyenne  $\bar{X}=1,67\pm 1,27\text{mg/l}$ .

**Tableau 33: Concentrations inhibitrices de l'imipenème pour des souches isolées en 2012**

souches	IPM (Imipenème)		
	8 <CMI< 2		
	R	S	
	CMI	CMB	CMB/ CMI
S3112	≤2	64	32
S3212	1.43	46	32
S1412	≤2	9.21	5
S10312	≤1	5.75	6
S11412	1.15	9.21	8
S2512	≤03.2	51.2	16
S10512	11.5	11.5	1
S17512	115	115	1
S24512	2,87	24	8
S24512(2)	≤2	9.21	8
S3612	1	16	16
S13912	1.43	46	32
S41012	2.87	92.1	32

Six souches présentent des CMI supérieures à 2mg/l (cinq souches avec CMI=2.8mg/l et une souche avec CMI=4mg/l). Les valeurs de CMI de cette fourchette incluent les bactéries dans la catégorie intermédiaire, alors que les diamètres d'inhibition mesurés montrent que ces souches sont sensibles à l'imipenème (Tableau 28 ; Annexe 6).

En 2014, on a déterminé les concentrations inhibitrices de l'imipenème pour 10 souches caractérisées comme résistantes. Les résultats du tableau 35, montrent que les valeurs des CMI varient entre 64mg/l et 5.12mg/l avec une moyenne  $\bar{X} = 26,36 \pm 23,95$ mg/l. La souche S114 est une souche sensible.

## Résultats

---

Les résultats consignés dans le Tableau 18 (Annexe 4), montrent que la souche S614 est sensible à cet antibiotique, alors que la souche S814 est incluse dans la catégorie intermédiaire. Cependant la CMI de ces deux souches est égale à 5.12 mg/l ; ce qui les incluent parmi les intermédiaires. Les rapports CMB/CMI=2 ; indique que cet antibiotique a un effet bactéricide sur elles. Les autres souches sont résistantes (R+I) ont une moyenne de  $\bar{X}_{CMI}=28,72 \pm 24,13$  mg/l.

La souche S414 présente une CMI=12.8 mg/l, ce qui l'inclus dans la catégorie résistante, alors que selon l'antibiogramme par la méthode de diffusion sur milieu gélosé elle est considérée comme intermédiaire.

En 2016, on a déterminé les concentrations inhibitrices de l'imipénème pour 07 souches caractérisées comme résistantes (Tableau 14 ; Annexe 4). Les résultats du tableau 36, montrent que les valeurs des CMI varient entre 1 mg/l et 16 mg/l avec une moyenne  $\bar{X}= 3,71 \pm 5,43$  mg/l. Les rapports CMB/CMI des souches résistantes (Tableau 37), montrent que cet antibiotique peut avoir différents effets pour les différentes souches testées. Il se montre bactéricide que pour la souche S271016(1), avec un rapport CMB/CMI=4, et il est bactériostatique pour 4/7 souches testées, mais les autres souches montrent une tolérance à cet antibiotique avec un rapport CMB/CMI de 25 et 32.

Tableau 34: Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches choisies en 2013

Souches	IPM (Imipénème)		8 <CMI< 2
		R	S
	CMI	CMB	CMB/ CMI
S4113	2.87	92.1	32
S5113	0.36	5.75	16
S14113	2.87	92.1	32
S30313	28.7	28.7	1
S1413	2.87	92.1	32
S1513	1.15	92.1	8
S30113	1.43	46	32
S13213	0.36	5.75	16
S15213	1.15	92.1	8
S5313	0.36	5.75	16
S15313	0.36	5.75	16
S19313	1.43	46	32
S10413	2.87	92.1	32
S16413	4.6	38	8
S17413	2.8	22.68	8
S13513	0.36	5.75	16
S14513	1.15	9.21	8
S16513	115	115	1
S13613	1.43	46	32
S15613	11.5	11.5	1
S191013	16	16	1

**Tableau 35: Concentrations inhibitrices de l'imipénème pour des souches choisies en 2014**

Souches	IPM (Imipénème)		
	8 <CMI< 2		
	R	S	
	CMI	CMB	CMB/ CMI
S114	0.512	1.024	2
S214	51.2	921	18
S314	12.8	102.4	8
S414	≥12.8	≥51.2	4
S514	11.5	102.4	8
S614	≥5.12	10.24	2
S814	≥5.12	10.24	2
S914	64	1024	16
S1014	11.5	≥102.4	8
S1114	25.6	102.4	4
S1214	64	512	8

**Tableau 36: concentrations inhibitrices bêta-lactamines des souches isolées en 2016  
(Résultats de VITEK)**

souche	CMI d'imipenème (IPM)
S22116	2
S26116	2
S3216	1
S6416	2
S6716	2
S13716	2
S16816	2
S5916	2
S41016	2
S211016	1
S271016(1)	2
S271016(2)	2
S31116	1
S231116(1)	2
S231116(2)	≥16
S31216	0.25

**Tableau 37: Concentrations inhibitrices de l'imipenème pour des souches choisies en 2016**

souches	IPM		
	2 ≥ CMI ≥ 8		
	S	I	R
	CMI	CMB	CMB/ CMI
<b>S26116</b>	2	32	16
<b>S3216</b>	1	16	16
<b>S6716</b>	2	51.2	25.6
<b>S41016</b>	2	16	8
<b>S211016</b>	1	8	8
<b>S271016(1)</b>	2	8	4
<b>S231116(2)</b>	≥16	512	32

### III.3.7. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique

Pour la recherche de l'effet post antibiotique, on a testé trois concentrations (CMI, CMB, 10CMI) et trois temps d'exposition (0.5h, 1h, 2h) pour quelques souches résistantes.

Vis-à-vis de l'amikacine on a testé cinq souches qui sont S16513, S1014, S914, S1114 et S214. Pour l'imipenème, on a testé quatre souches qui sont S16513, S1014, S1114, et S214. La souche S914 qui est caractérisée comme souche résistante par Imperméabilité sélective OprD2 et on n'a pas pu déterminer sa CMB.

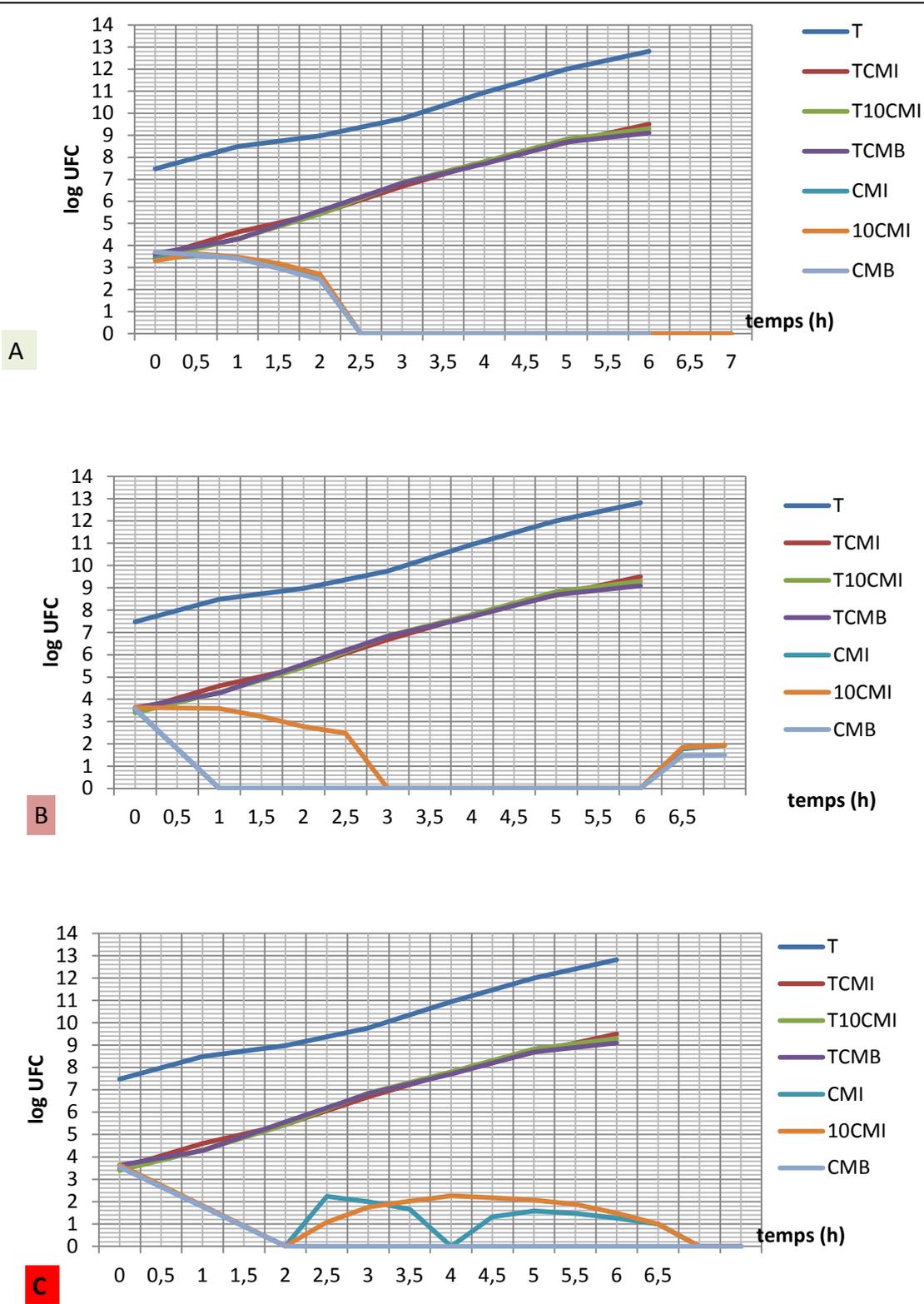
#### V.3.7.1. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'amikacine

Après une exposition aux trois concentrations testées, pendant une demi-heure, la figure 25.A, montre que les taux cellulaires de la souche S16513 diminuent au cours de temps et arrivent à 0UFC/ml après **2h** de l'élimination de l'amikacine, mais aucune augmentation n'est observée après cette durée.

Tandis que, la figure 25. B, montre qu'après une exposition d'une heure, les taux arrivent à 0UFC/ml pour les cellules exposées aux concentrations CMI et CMB, et restent constants 5heures après élimination de l'antibiotique, alors que les cellules exposées à la concentration 10CMI montrent une faible diminution pendant l'heure de contact. Après élimination de l'amikacine, on observe un poursuit de la diminution des taux cellulaires qui arrivent à 0UFC/ml **2h** après élimination de l'antibiotique et ils restent constants pendant 3heures.

Les courbent montrent une augmentation des taux des cellules après **6h** de mise en contact avec l'antibiotique pour les trois concentrations testées.

Après deux heures d'exposition, la figure 25.C, montre que les taux cellulaires de cette souche arrivent à 0UFC/ml, mais après élimination de l'antibiotique de milieu de culture, les taux des cellules exposées à la concentration CMB restent constants (0UFC/ml). Alors que celles exposées aux concentrations CMI montrent une augmentation durant la première demi-heure, mais elle est suivie d'une diminution progressive, en arrivant à 0UFC/ml **2h** après élimination de l'antibiotique. Une deuxième augmentation est suivie d'une diminution est observé dans l'heure d'après, puis, suivie d'une autre diminution. Ce qui permet de constater que les taux de ces cellules tendent-vers 0UFC/ml **3h** après la première chute, donc **5h** après élimination de l'antibiotique.



**Figure 25** : Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S16513

**A** : Evolution des taux des cellules exposées 1/2 heure à l'Amikacine. **B** : Evolution des taux des cellules exposées 1 heure à l'Amikacine. **C** : Evolution des taux des cellules exposées 2 heure à l'Amikacine

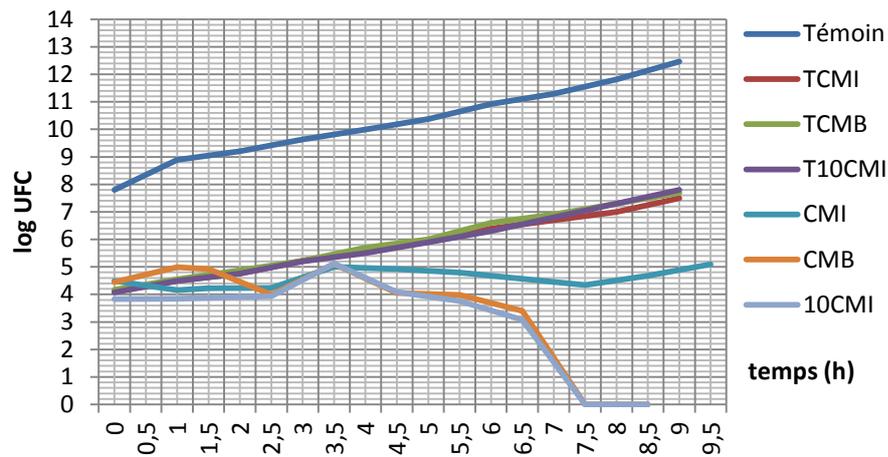
La figure 26.A, nous a permis de remarquer que les taux des cellules viables de la souche S1014 exposées une demi-heure aux concentrations CMI et 10CMI, restent constants pendant 2h30min (0.5h de temps de contact + 2h après élimination de l'antibiotique). Celles exposées à la CMB continuent à augmenter pendant le temps de contact et une demi-heure après, donc au total pendant **1h**, puis, on note une diminution pendant **1h30min**.

2h30min, après élimination de l'antibiotique, toutes les cellules (exposées aux concentrations testées) montrent une augmentation suivie d'une diminution. Cette dernière est dure jusqu'à **7h**. En suite, les taux des cellules exposées aux concentrations plus élevées (CMB=4CMI, 10CMI) arrivent à 0UFC/ml, alors que celles exposées à la concentration CMI, montrent une diminution faible puis une augmentation comparable au témoin, ensuite les taux augmentent de 1log à 9h30min ; donc **8h30min** après élimination de l'antibiotique.

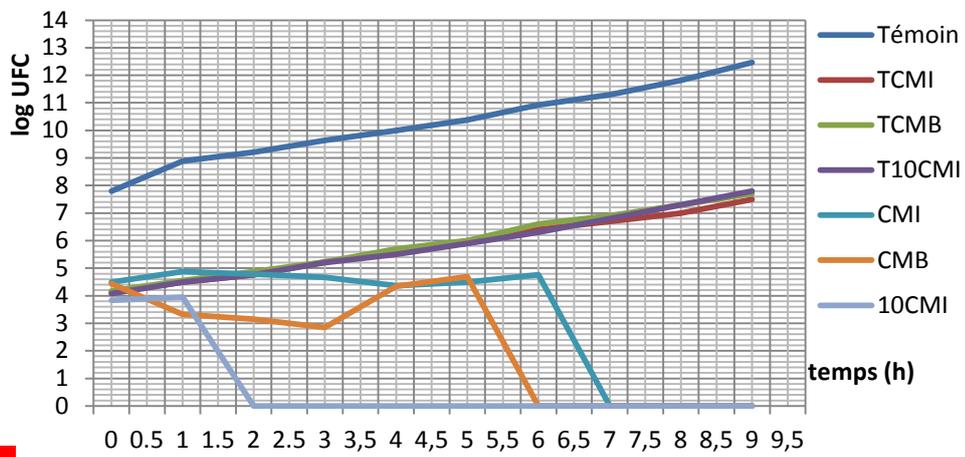
Le suivi de l'évolution des taux des cellules vivantes de la souche S1014, exposées **une heure** aux différentes concentrations testées (figure 26.B), nous a permis de noter que les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et 10CMI augmentent pendant le temps de contact. Ils diminuent pendant **2h** après élimination de l'antibiotique, en suite, ils augmentent dans les **2h** qui suivent. Une heure après, le taux de ces cellules arrive à 0UFC/ml. Alors que, celui de la souche S1014 exposée à la concentration CMB, montre une diminution de **1log** dans l'heure de contact. Le taux de ces cellules continu à diminuer après élimination de l'antibiotique (figure 26.B) pendant deux heures. Cependant le taux des cellules inhibées pendant ces **2h** est inférieur à celui des cellules inhibées durant l'heure d'exposition. Après 2h de l'élimination de l'antibiotique, on remarque une augmentation de 1.5log/ pendant 1h.

Après élimination de l'amikacine, les taux cellulaires de la souche S1014, exposées **1heure** aux différentes concentrations arrivent à 0UFC/ml, après **6h** pour les cellules exposées à la concentration CMI, **5h** pour les cellules exposées à la concentration CMB et après **1h** pour celles exposées à la concentration 10CMI.

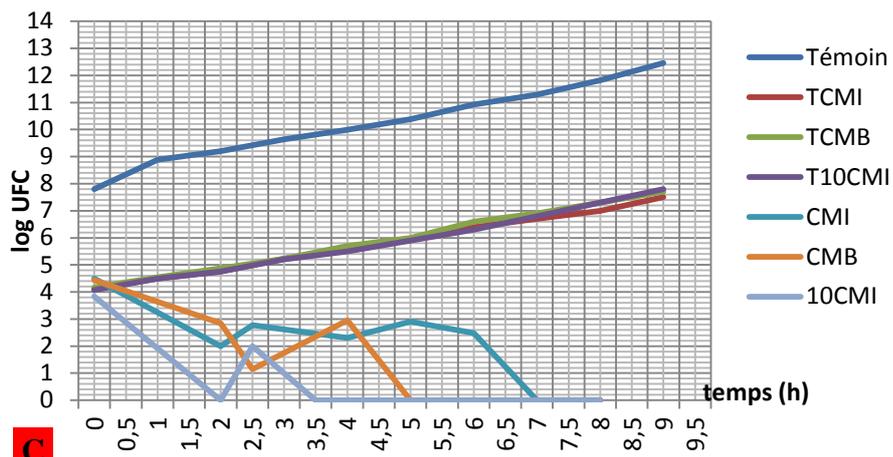
Après exposition de 2h aux concentrations testées (figure 26.C), on remarque que les taux des cellules vivantes diminuent, ils arrivent à 0UFC/ml pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. La diminution des cellules exposées à la concentration **CMB(4CMI)** est inférieure à **2log**, alors que celle des cellules exposées à la concentration **CMI** est supérieure à **2log**. Après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et 10CMI augmentent directement pendant la demi-heure qui suit, alors que ceux des cellules exposées à la concentration CMB continuent à diminuer pendant cette



**A**



**B**



**C**

**Figure 26:** Effet post antibiotique de l'amikacine sur la souche S1014

**A :** Evolution des taux des cellules exposées 1/2 heure à l'Amikacine. **B :** Evolution des taux des cellules exposées 1 heure à l'Amikacine. **C :** Evolution des taux des cellules exposées 2 heure à l'Amikacine.

durée. Cependant, ces taux montrent aussi une augmentation mais une demi-heure plus tard ; ils arrivent à 0UFC/ml après **1h30min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI, après **3h** pour les cellules exposées à la concentration CMB et après **5h** pour les cellules exposées à la concentration CMI.

Le suivi de l'évolution des taux cellulaires de la souche S1114, mise en contact avec différentes concentrations de l'amikacine pendant 30min (Figure 27.A), montre que ces taux restent constants pendant le temps de contact. Après élimination de l'antibiotique, ils restent encore constants pendant 2h pour les cellules exposées aux concentrations CMB et CMI. Dans l'heure qui suit (**3h30min** après élimination de l'antibiotique), pour cette dernière (CMI), les taux diminuent presque de 2log, alors que pour la première (CMB) ils diminuent à 0UFC/ml, puis restent stables, alors que les premiers rejoignent le taux initial une heure après. L'augmentation des taux des cellules exposées à la concentration CMI continue à augmenter, mais avec une vitesse très faible, ils augmentent de **1log** après **8h** de l'élimination de l'antibiotique.

Les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI restent constants **3h30min** après élimination de l'antibiotique, puis ils commencent à diminuer ; en arrivant à 0UFC/ml **4h30min** après élimination de l'antibiotique, et aucune augmentation n'est observée après.

La prolongation de temps de contact à 1h de temps (figure 27.B), a permis de noter une diminution à 0UFC/ml des taux des cellules exposées aux deux concentrations les plus élevées (CMB, 10CMI). Une heure après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées à la concentration CMB commencent à augmenter. Ils rejoignent un taux comparable au taux initial pendant **1h**. A cette heure, les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI, commencent à augmenter pour atteindre aussi un taux semblable au taux initial 1h après, ensuite les taux restent constants jusqu'au **6h** après élimination de l'antibiotique.

Les taux des cellules exposées à la concentration CMI restent constants pendant 7h (1h de contact et **6h** après élimination de l'antibiotique).

La figure 27.B, permet de remarquer qu'après 6h de l'élimination de l'antibiotique les taux de toutes les cellules commencent à diminuer, ils arrivent à 0UFC/ml pendant une heure de temps ; ce qui correspond à **7h** après élimination de l'antibiotique.

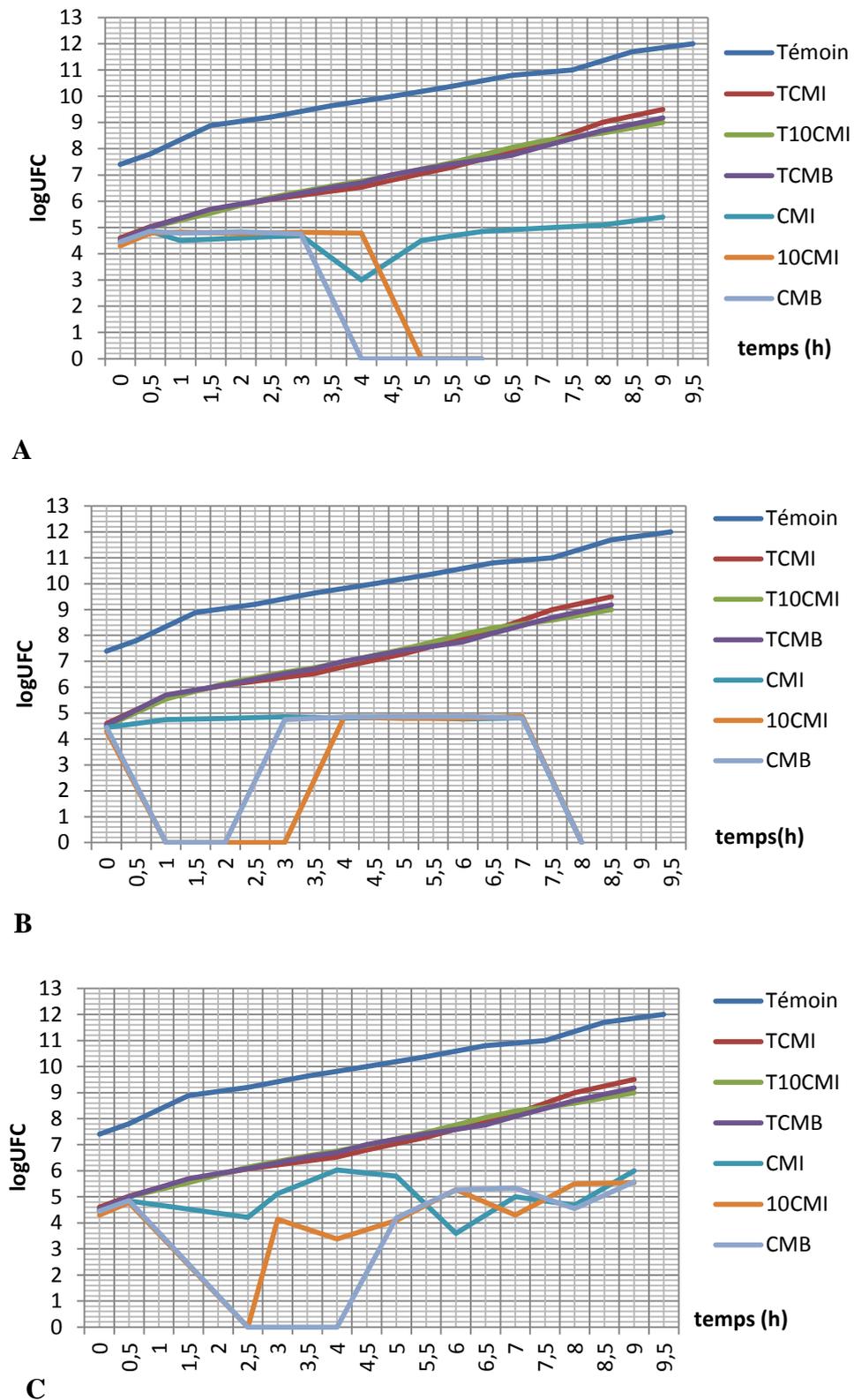
La figure 27.C présente l'évolution des taux cellulaires de la souche S1114 exposées 2h aux différentes concentrations. Elle permet de remarquer une diminution des taux cellulaires pendant le temps de contact. Cette diminution est seulement de 0.9log pour les cellules

exposées à la concentration CMI, mais elle est de 0UFC/ml pour les cellules exposées aux deux autres concentrations (CMB, 10CMI).

Après élimination de l'antibiotique, on remarque une augmentation très accélérée des taux des cellules exposées à la concentration 10CMI ; avec un temps de génération de 15min. Ceux des cellules exposées à la concentration CMB, montrent aussi une augmentation, mais elle est initiée 1h30min après élimination de l'antibiotique et avec un temps de génération de 30min. 2h30min après élimination de l'antibiotique les taux des cellules exposées aux deux concentrations les plus élevées arrivent aux nombre très proches. A partir de là, on remarque des variations intermittentes entre augmentation et diminution des taux cellulaires, ces perturbations se poursuivent 6h30min après élimination de l'antibiotique.

Après une 0.5h de contact avec les différentes concentrations de l'amikacine, selon la figure 28.A, les taux cellulaires de la souche S914 diminuent après élimination de l'antibiotique, mais ceux des cellules mises en contact avec la concentration CMB, présentent une augmentation comparable au témoin pendant le temps de contact. Après élimination de l'antibiotique, les taux de ces cellules restent constants pendant 30min puis ils commencent à diminuer ; ils arrivent à 0UFC/ml après **2h30min**. 1h30min après (4h après élimination de l'antibiotique), ils commencent à augmenter ; une augmentation de 1log est observée pendant 1h, ensuite ils commencent à diminuer pour arriver une deuxième fois à 0UFC/ml 1h plus tard.

Les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI, qui est une concentration plus élevée que la CMB, diminuent presque de 1log pendant le temps de contact, puis la régression est diminuée au cours du temps. 2h30min après élimination de l'antibiotique la régression est augmentée avec une vitesse de 1log/30min. Un taux de 0UFC/ml est observé 4h après élimination de l'antibiotique, puis, aucune augmentation n'est observée après. Par contre les cellules exposées à la concentration CMI présentent une diminution pendant le temps de contact et après élimination de l'antibiotique. 2h30min après élimination de l'antibiotique les taux commencent à être constants et à cette heure là ils présentent une différence de 1log relativement aux taux initiaux, ils ne commencent à augmenter que **4h** après élimination de l'antibiotique. Une augmentation de **1log** est observée **6h15min** après élimination de l'amikacine.



**Figure 27** : Effet post antibiotique de à l'amikacine sur la souche S1114.  
**A** : Evolution des taux des cellules exposées 1/2 heure à l'Amikacine. **B** : Evolution des taux des cellules exposées 1 heure à l'Amikacine. **C** : Evolution des taux des cellules exposées 2 heure à l'Amikacine

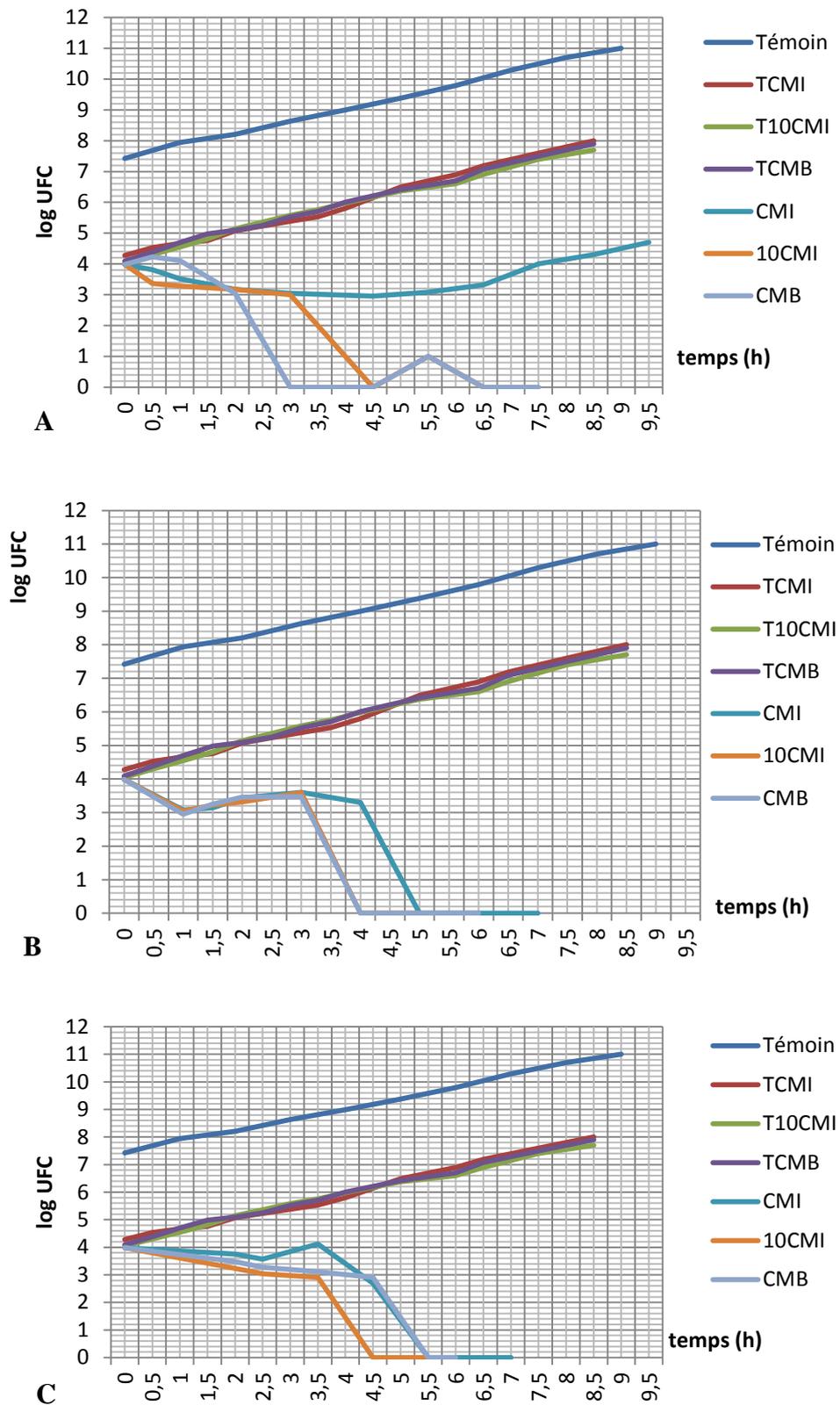
Les taux des cellules de la souche S914 exposées à la concentration CMI montrent une augmentation de 1log après 6h15min de l'élimination de l'amikacine.

La prolongation du temps de contact à 1h (Figure28.B) a permis de remarquer une diminution des taux des cellules de la souche S914 pendant le temps de contact. Mais, après élimination de l'antibiotique, on remarque une augmentation pendant 2h de temps. Cette dernière est suivie par une diminution des taux cellulaires au cours du temps, elle atteint 0UFC/ml après **3h** de l'élimination de l'antibiotique pour les cellules exposées aux concentrations CMB et 10CMI et après **4h** pour celles exposées à la concentration CMI.

La prolongation du temps de contact à 1h (figure 28.B) a permis d'observer une inhibition de la totalité des cellules, avec un décalage de 1h pour toutes les concentrations testées. Alors que le contact pendant 0.5h seulement n'a pas abouti à 0UFC/ml pour la concentration CMI.

La prolongation de temps de contact à 2h (figure28.C) montré une diminution des taux cellulaires pendant le temps de contact. La régression des taux cellulaire est poursuivie même après élimination de l'antibiotique pour les deux concentrations les plus élevées (CMB,10CMI). Après élimination de l'antibiotique, on observe une initiation d'une phase d'accélération de l'inhibition qui commence 1h30min pour les cellules exposées à la concentration CMB et 2h30min pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. En outre, les taux des cellules exposées à la concentration CMI initient une phase d'augmentation 30min après élimination de l'antibiotique et initient une phase de déclin 1h après ; ce qui correspond à 2h30min. La comparaison des courbes (Figure 28.C) permet de remarquer que les cellules exposées aux deux concentrations critiques CMI et CMB initient une phase de déclin accélérée à la même heure ; 1h30min après élimination de l'antibiotique. Ce qui fait un décalage de 1h avec celles exposées à la concentration 10CMI. Cependant un taux de 0UFC/ml est observé 3h30min pour les concentrations CMI et 10CMI, et aussi pour les cellules exposées à la concentration CMB, mais 1h avant ; donc 2h30min après élimination de l'antibiotique.

A la différence des autres souches, les taux cellulaires de la souche S214 augmentent pendant le temps de contact de 0.5h avec l'amikacine (figure 29.A). Après élimination de l'antibiotique les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et 10CMI montrent une régression immédiate.



**Figure 28** : Effet post antibiotique de à l'amikacine sur la souche S914

A : Evolution des taux des cellules exposées 1/2 heure à l'Amikacine. B : Evolution des taux des cellules exposées 1 heure à l'Amikacine. C : Evolution des taux des cellules exposées 2 heures à l'Amikacine

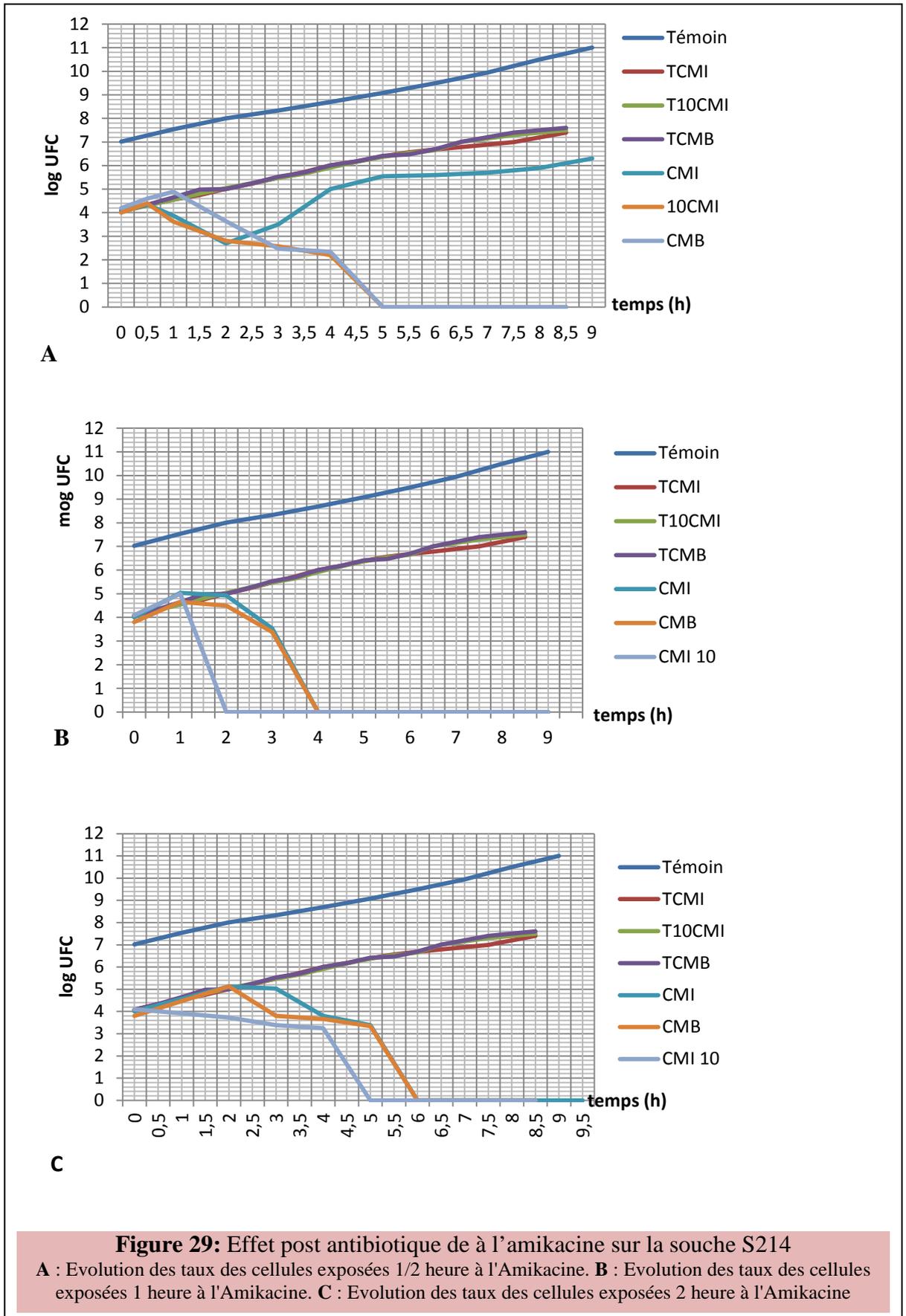
Après élimination de l'antibiotique ; ceux des cellules exposées à la concentration 10CMI poursuivent la progression pendant **30min**, puis ils diminuent. Un taux de 0UFC/ml est observé **4h30min** pour les deux concentrations les plus élevées (CMB et 10CMI). La diminution des taux des cellules exposées à la concentration CMI initie une phase exponentielle 1h30min après élimination de l'antibiotique, mais ils augmentent de 1log 2h22min après élimination de l'antibiotique.

Nous tenons que même la prolongation à 1h de temps de contact (figure 29.B), permet d'observer aussi une augmentation des taux cellulaires. Après élimination de l'antibiotique les taux commencent à diminuer. Ils arrivent à 0UFC/ml pendant 1h pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et pendant 3h pour celles exposées à la concentration CMI et CMB, ensuite aucune augmentation des taux cellulaires est observée pendant le temps de suivi.

L'exposition des cellules de la souche S214 pendant 2h aux différentes concentrations de l'amikacine (figure 29.C), a permis de remarquer que les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et CMB augmentent pendant le temps de contact. Alors que ceux des cellules exposées à la concentration 10CMI, présentent une légère diminution. Après élimination de l'amikacine, les taux cellulaires de ces dernières poursuivent la diminution. Ainsi que ceux des cellules exposées à la concentration CMB, après une diminution de 1log pendant 1h, ils ralentissent la vitesse de régression de 0.5log pendant 3h, ensuite ils chutent à 0UFC/ml pendant 1h, donc 4h après élimination de l'antibiotique.

Les taux des cellules exposées à la concentration CMI restent constants pendant 1h, après élimination de l'antibiotique, ensuite ils présentent une diminution au cours du temps. Ils arrivent à 0UFC/ml après 4h de l'élimination de l'antibiotique.

Les résultats de détermination des concentrations inhibitrices montrent que le rapport CMB/CMI=4 ; ce qui confère une activité bactéricide de l'amikacine vis-à-vis la souche S214. Les résultats de la recherche de l'effet post antibiotique montrent d'une part la présence d'un effet inhibiteur même après élimination de l'antibiotique, et d'autre part que les taux cellulaires arrivent à 0UFC/ml dans la même heure pour les concentrations CMI et CMB. Ce taux est observé une heure en avant pour les cellules exposées à la concentration 10CMI.



## Résultats

D'une manière générale, les résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'amikacine (Tableau 38) montrent son existence pour les souches testées. Il est supérieur à 8h pour la majorité d'entre elles pour les différentes concentrations testées (CMI, 10CMI, CMB) et durant tous les temps de contact testés (0.5h, 1h, 2h), mais exceptionnellement, les souches S214, S314 et S914 ; il est de 2.36h pour la première, 6h pour la deuxième et de 6.25h pour la troisième après 0.5h de contact à la concentration CMI. Cette dernière est la plus faible concentration inhibitrice par rapport aux deux autres concentrations testées.

Les résultats de l'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé montrent que les deux souches S314 et S914 sont résistantes à l'amikacine, alors que la souche S214 est sensible. Les résultats de déterminations des concentrations inhibitrices montrent que l'amikacine n'a qu'un effet bactériostatique sur les trois souches avec un rapport CMB/CMI= 8. Ils montrent aussi que la souche S214 présente les concentrations inhibitrices les plus faibles par rapport aux deux autres souches, mais l'effet post antibiotique le plus court après une exposition à la CMI pendant 0.5h. Le tableau 38, a permis aussi de remarquer que les taux cellulaires tendent vers 0UFC/ml entre 1h 6 heures.

**Tableau 38 : Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'amikacine**

souches	Retard de croissance	Temps d'exposition à l'amikacine/Concentration testées								
		1/2heure			1heure			2heure		
		[CMI]	[CMB]	[10CMI]	[CMI]	[CMB]	[10CMI]	[CMI]	[CMB]	[10CMI]
S16513	t0UFC(h)	2	2	2	0-5	2	2	0/2/5	0	0/5
	tEPA(h)	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>7.5	>7.5
S214	t0UFC(h)	/	4.5	4.5	3	3	1	3	3	2
	tEPA(h)	2.36	>8	>8	>8	>8	>8	>7.5	>7.5	>7.5
S314	t0UFC(h)	/	4	4	5	4	4	3	3	2
	tEPA(h)	6	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8
S914	t0UFC(h)	/	2.5/6	4/6	4	3	3	3.5	3.5	2.5
	tEPA(h)	6,25	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>7.5	>7.5
S 1014	t0UFC(h)	/	7	7	6	5	1	5	5	0/1.5
	tEPA(h)	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>7.5	>7.5
S1114	t0UFC(h)	/	3	4	/	0-1	0-2	/	0-1.5	2
	tEPA(h)	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>6.5	>6.5

### III.3.7.2. Résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'imipenème

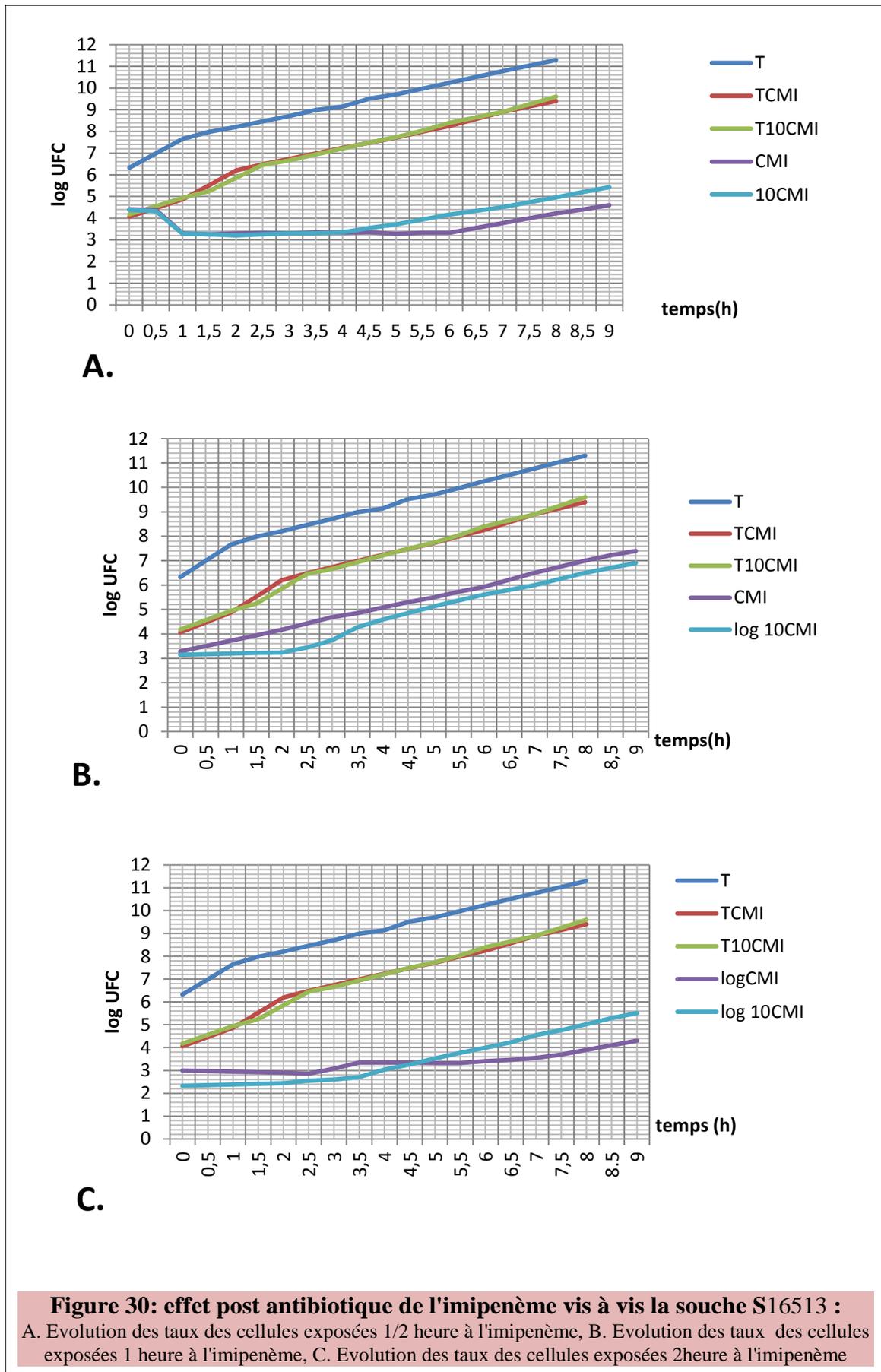
La figure 30 A., montre que les taux des cellules de la souche S16513 restent constants pendant le contact (30min) aux différentes concentrations de l'imipenème. Mais, après élimination de l'antibiotique, on remarque que les taux régressent de 0,8log pendant **30min**, ensuite ils restent constants **3h** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et **5h** pour les cellules exposées à la concentration CMI. Après cette phase stationnaire, les cellules représentent un rythme de croissance comparable aux témoins. Une augmentation de 1log est observée après **5h15min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et **7h15min** pour celles exposées à la concentration CMI. De ce fait après une demi-heure de contact avec l'imipenème, un effet post antibiotique a été observé ; il est de **5h15min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et de **7h15min** pour les cellules exposées à la concentration CMI.

Après **1h** de contact avec l'imipenème (Figure 30.B), on remarque que les cellules exposées à la concentration CMI=CMB poursuivent une croissance exponentielle sans passer par une phase d'accélération.

Par contre, les cellules exposées à la concentration 10CMI pendant **1h** présentent trois phases de croissance ; une première phase caractérisée par des taux constants pendant 2h (1h de contact et 1h après élimination de l'antibiotique), une deuxième phase présentant une augmentation accélérée et une troisième phase avec une croissance exponentielle comparable aux témoins. Ce qui permet de mettre en évidence l'existence d'un effet post antibiotique de **2h30min**.

La figure 30.C , montre que les taux cellulaires, n'ont pas changé pendant le temps de contact de 2h pour les concentrations testées. Après élimination de l'antibiotique, les taux augmente de 0,2log pendant 1h, ensuite, ceux des cellules exposées à la concentration 10CMI montrent une augmentation exponentielle comparable au témoin, alors que ceux des cellules exposées à la concentration CMI=CMB restent constants pendant 2h30min. Puis ils augmentent de 0,2log pendant 1h30min. **5h** après élimination de l'antibiotique, les taux cellulaires commencent une augmentation exponentielle comparable au témoin.

Les résultats de l'antibiogramme standard, la souche S16513 est considérée résistante à l'imipenème avec une CMI=CMB=115 mg/l.



La figure 31.A montre que pendant une demi-heure de contact, les taux des cellules de la souche S1014 diminuent presque de 1,8log (proche de 50%) pour les cellules exposées à la concentration CMI et de 3log pour celle exposées à la concentration CMB.

Pour celles exposées à la concentration 10CMI ; qui est la concentration la plus élevées par rapport aux concentrations testées, montrent une diminution presque de 2,5log pendant le temps de contact. Cette diminution est poursuivie une demi-heure après élimination de l'antibiotique. Par contre, on remarque que les taux des cellules exposées à la concentration CMI augmentent de 2log pendant 4h30min (1log pendant 3h qui suit l'élimination de l'antibiotique puis 1log pendant 1h15min). Ensuite, le taux de ces cellules montre une légère diminution de 0,4log pendant 2h. A partir de la septième heure ils augmentent de nouveau mais avec une vitesse comparable de celle des témoins. De ce fait, ces cellules n'ont pas pu commencer une croissance comparable au témoin qu'après **6h30min** de l'élimination de l'antibiotique, et présentent une augmentation de 1log, 1h30min plus tard. Ce qui permet d'admettre que l'imipénème a exercé un effet post antibiotique de 8h30min pour les cellules de la souche S1014, exposées à la concentration CMI pendant une demi-heure.

La figure 31.B présente les résultats de suivi des taux cellulaires de la souche S1014 misent en contact 1h avec l'imipénème aux différentes concentrations. Elle permet de remarquer une diminution exponentielle des taux des cellules exposées à la concentration 10CMI. Cette diminution est observée pendant le temps de contact et après élimination de l'antibiotique. Elle a permis d'avoir un taux de 0UFC/ml pendant 2h, mais après élimination de l'antibiotique, on remarque une vitesse d'inhibition de 2log/h, et aucune augmentation de ces cellules n'est observée pendant le temps de suivi de l'évolution des taux cellulaires.

Les cellules mises en contact avec une concentration CMB, montrent une diminution des taux de 0,4log pendant le temps de contact et après élimination de l'antibiotique. Mais avec d'un rythme accéléré après élimination de l'antibiotique ; ils arrivent à 0UFC/ml pendant **1h** ; ce qui correspond à une vitesse d'inhibition de 2,8log/h.

Par ailleurs, les taux des cellules exposées à la concentration CMI (Figure 31.B), restent constants pendant l'heure du contact. Après élimination de l'antibiotique, on remarque une diminution de 1,6log pendant 1h. Ensuite, les taux de ces cellules restent presque constants 2h30min, puis ils montrent une régression jusqu'à 0UFC/ml 2h30min plus tard, ce qui correspond à **6h** après élimination de l'antibiotique.

La figure 31.C, montre que les taux cellulaires de la souche S1014 diminuent pendant les 2h

d'exposition aux différentes concentrations, ceux des cellules exposées à la concentration 10CMI, qui est la concentration la plus élevée parmi les concentrations testées, arrivent à 0UFC/ml. Par contre ceux des cellules exposées à la concentration CMI diminuent de 3log ; ce qui correspond à une différence presque de 1log avec les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI.

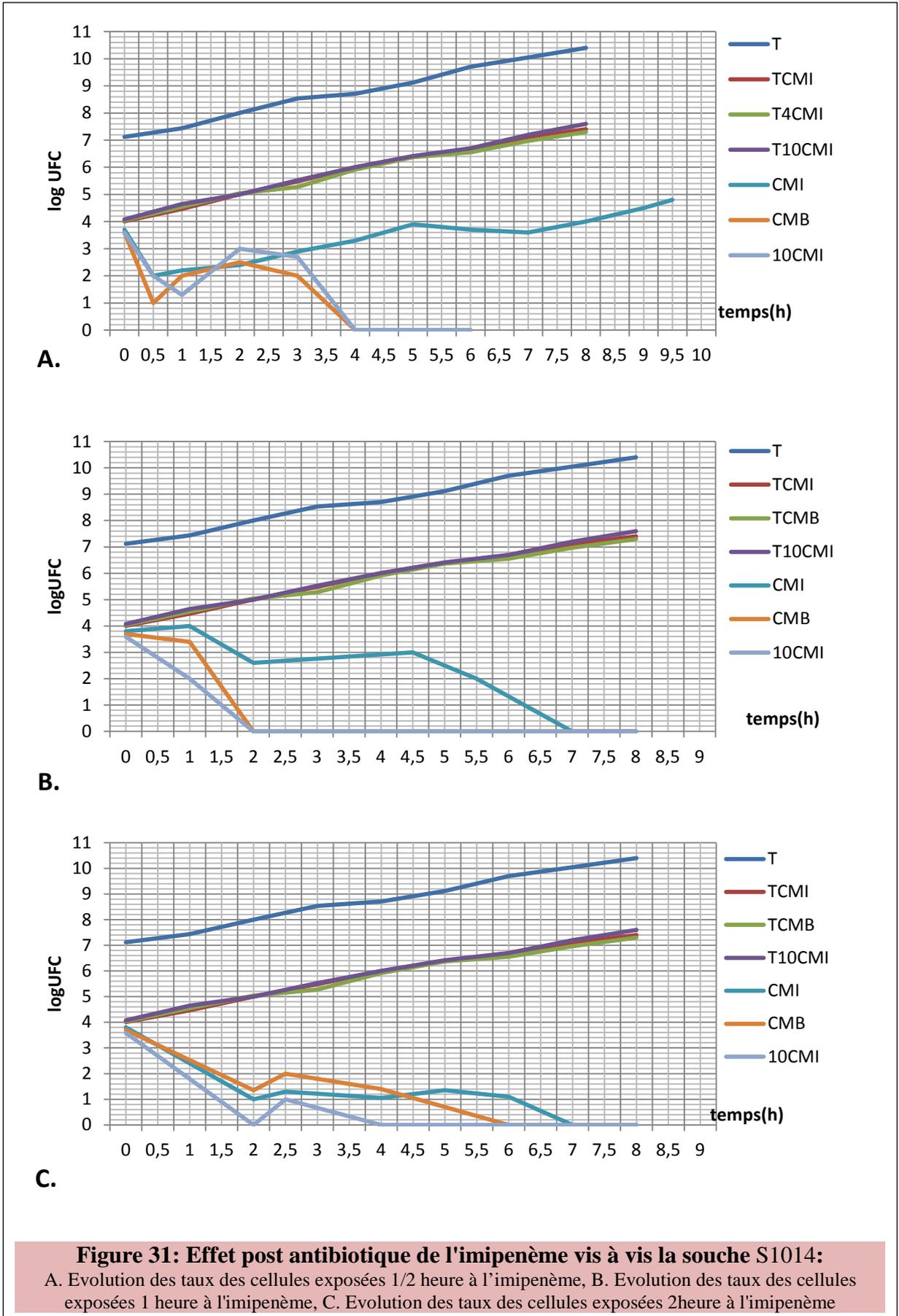
Les taux de celles exposées à la concentration CMB diminuent de 2,7log ; ce qui présente une différence de 0,4log avec ceux de la CMI et une différence de 1,3log avec ceux de 10CMI.

Après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées aux concentrations CMB et 10CMI, augmentent pendant une demi-heure (30min). Cette augmentation est au voisinage de 1log. Ensuite, ils régressent jusqu'à 0UFC/ml est observée 2h et 4h après élimination de l'antibiotique (figure 31.C). La recherche des concentrations inhibitrices montre que CMB=8CMI.

Les taux des cellules exposées à la concentration CMI, ne présentent que de faibles variations ; ils restent constants 4h après élimination de l'antibiotique, puis ils diminuent à 0UFC/ml dans la septième heure ; ce qui correspond à **5h** après élimination de l'antibiotique.

Le suivi de l'évolution des taux des cellules vivantes de la souche **S214**, après expositions une demi-heure (Figure 32.A), montre une augmentation des taux cellulaires pendant **1h** (0,5h pendant le contact et 0,5h après élimination de l'antibiotique). Cette augmentation est plus importante pour les cellules exposées à la concentration CMB par rapport aux deux autres concentrations testées. Elle est poursuivie **2h30min**, après élimination de l'antibiotique pour ces dernières. Les taux des cellules exposées à la concentration CMI, montrent une diminution des taux dans l'heure qui suit, alors que ceux des cellules exposées à la concentration CMB restent constants **2h30min**, après élimination de l'antibiotique. **1h30min**, après élimination de l'antibiotique, les cellules exposées à la concentration CMI montrent une augmentation exponentielle de 1log, **2h30min** après élimination de l'antibiotique.

Les courbes montrent que les cellules exposées à la concentration 10CMI présentent une augmentation comparable au témoin pendant les trois premières heures. Puis une diminution presque de 1log dans l'heure qui suit. En suite le taux reste constant pendant une heure, à partir de la cinquième heure les cellules présentent une croissance exponentielle ; elles augmentent de 1log **5h30min** après élimination de l'antibiotique.



**Figure 31: Effet post antibiotique de l'imipénème vis à vis la souche S1014:**  
 A. Evolution des taux des cellules exposées 1/2 heure à l'imipénème, B. Evolution des taux des cellules exposées 1 heure à l'imipénème, C. Evolution des taux des cellules exposées 2 heures à l'imipénème

Les taux des cellules exposées à la concentration CMB montrent une chute à 0UFC/ml dans la quatrième heure ; donc 3h30min après élimination de l'antibiotique. En plus, aucune augmentation n'est observée jusqu'à la septième heure, sachant que, la concentration CMB est la concentration la plus élevée parmi les concentrations testées.

La comparaison des trois courbes (Figure 32.A) correspond à la souche S214, nous indique que 2h30min après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules arrivent à une augmentation presque de 1log, pour les trois concentrations testées. **3h30min** après l'élimination de l'antibiotique, nous remarquons un point de diminution commun des taux cellulaires pour les deux concentrations les plus élevées. Les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI diminuent presque de 1log et arrivent au même taux initial avant la mise en contact avec l'antibiotique, alors que ceux exposées à la concentration CMB arrivent à 0UFC/ml, cette heure présente un point d'initiation d'une phase de croissance exponentielle pour les cellules exposées à la concentration CMI.

Après une heure d'exposition aux différentes concentrations, la figure 32.B montre que les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et CMB, montrent une augmentation pendant **3h30min** pour les cellules exposées à la concentration CMI et **1h30min** pour les cellules exposées à la concentration CMB. Ensuite, les taux des cellules exposées à la concentration CMI, montrent une diminution pendant 1h, puis ils restent constant jusqu'à **7h**. Alors que ceux exposées à la concentration CMB continuent à diminuer pour arriver à 0UFC/ml après **3h** de l'élimination de l'antibiotique.

Les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI montrent une régression continue ; ils arrivent à 0UFC/ml **2h** après élimination de l'antibiotique.

La figure 32.C présente l'évolution des taux des cellules de la souche S214 exposées 2h aux différentes concentrations de l'imipénème. Elle permet de remarquer que le taux des cellules exposées aux concentrations CMB et 10CMI arrive à 0UFC/ml après **1h** de l'élimination de l'antibiotique. On a remarqué aussi, que pendant le temps de contact des cellules de cette souche à l'antibiotique, les taux ne montrent qu'une légère variation pour les concentrations CMI et CMB, ils restent constants pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. Après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées à la concentration CMI sont augmenté légèrement pendant 2h, ensuite, ils commencent à diminuer pour arriver à 0UFC/ml deux heures plus tard ; donc **4h** après élimination de l'antibiotique.

Pendant les 30min de contact avec l'imipénème, les taux cellulaires de la souche S1114 montrent une diminution mais après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées à la concentration CMI(=CMB), augmentation pendant 2h30min, ensuite ils présentent une phase stationnaire ; ils restent constants pendant **3h**. Après **5h30min** de l'élimination de l'antibiotique, ils commencent à présenter une augmentation exponentielle, mais avec un temps de génération plus long par rapport aux témoins.

Par contre, après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI, présentent une augmentation pendant 1h seulement suivie d'une phase stationnaire pendant 1h et une légère diminution pendant 1h. A partir de **3h** la diminution des taux cellulaires est accélérée ; elle passe de 4.23log à 0 pendant **1h**. On note aussi qu'aucune augmentation n'est observée pendant le temps de suivi.

Aussi, les taux des cellules de la souche S1114, mises en contact avec l'imipénème pendant 1h de temps (Figure 33.B.) montrent une diminution pendant le temps de contact et après élimination de l'antibiotique. Ils arrivent à 0UFC/ml **4h** après élimination de l'antibiotique pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. Par contre ceux des cellules exposées à la concentration CMI(=CMB), après une diminution proche de 1.5log pendant **2h** (1h de contact avec l'antibiotique et 1h après élimination de l'antibiotique), ils restent constants pendant **1h**, ensuite ils augmentent de 0,5log pendant **l'heure** qui suit. Puis, ils présentent une augmentation exponentielle avec une phase d'accélération de 1h. Ce qui fait **4h** de temps après élimination de l'antibiotique. A cette heure, on remarque que le taux cellulaire est très proche de nombre initial  $N_0$  (avant la mise en contact avec l'antibiotique) et on remarque aussi l'initiation d'une croissance exponentielle comparable au témoin. Une augmentation de 1log est observée **3h45min** après élimination de l'antibiotique.

Après **2h** de temps de contact avec l'antibiotique, la figure 33.C montre que les taux des cellules exposées à la concentration 10CMI, restent presque constants pendant le temps de contact. Après élimination de l'antibiotique ils régressent progressivement ; ils arrivent à 0UFC/ml **4h** après élimination de l'antibiotique, en suite, aucune augmentation n'est observée.

Les taux des cellules exposées à la concentration CMI(=CMB) diminuent de 2log pendant le temps de contact, mais après élimination de l'antibiotique, les taux augmentent de 1.8log pendant 30min. Ils poursuivent l'augmentation mais avec une vitesse très faible. **4h** après élimination de l'antibiotique ils commencent une phase exponentielle mais avec une vitesse

faible par rapport au témoin.

D'une manière générale, l'exposition des cellules de la souche S16513, permet d'avoir un effet post antibiotique (tableau 39) de **5h15min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et de **7h15min** pour les cellules exposées à la concentration CMI.

La prolongation de temps de contact à 2h de temps permet de remarquer l'existence d'un effet post antibiotique de **3h25min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI et de **7h** pour les cellules exposées à la concentration CMI=CMB

Après **1h** de contact avec l'imipenème (Figure 30.B), on remarque qu'il n'existe pas un effet post antibiotique.

Par contre les cellules exposées à la concentration 10CMI pendant **1h** présentent un effet post antibiotique de **2h30min**.

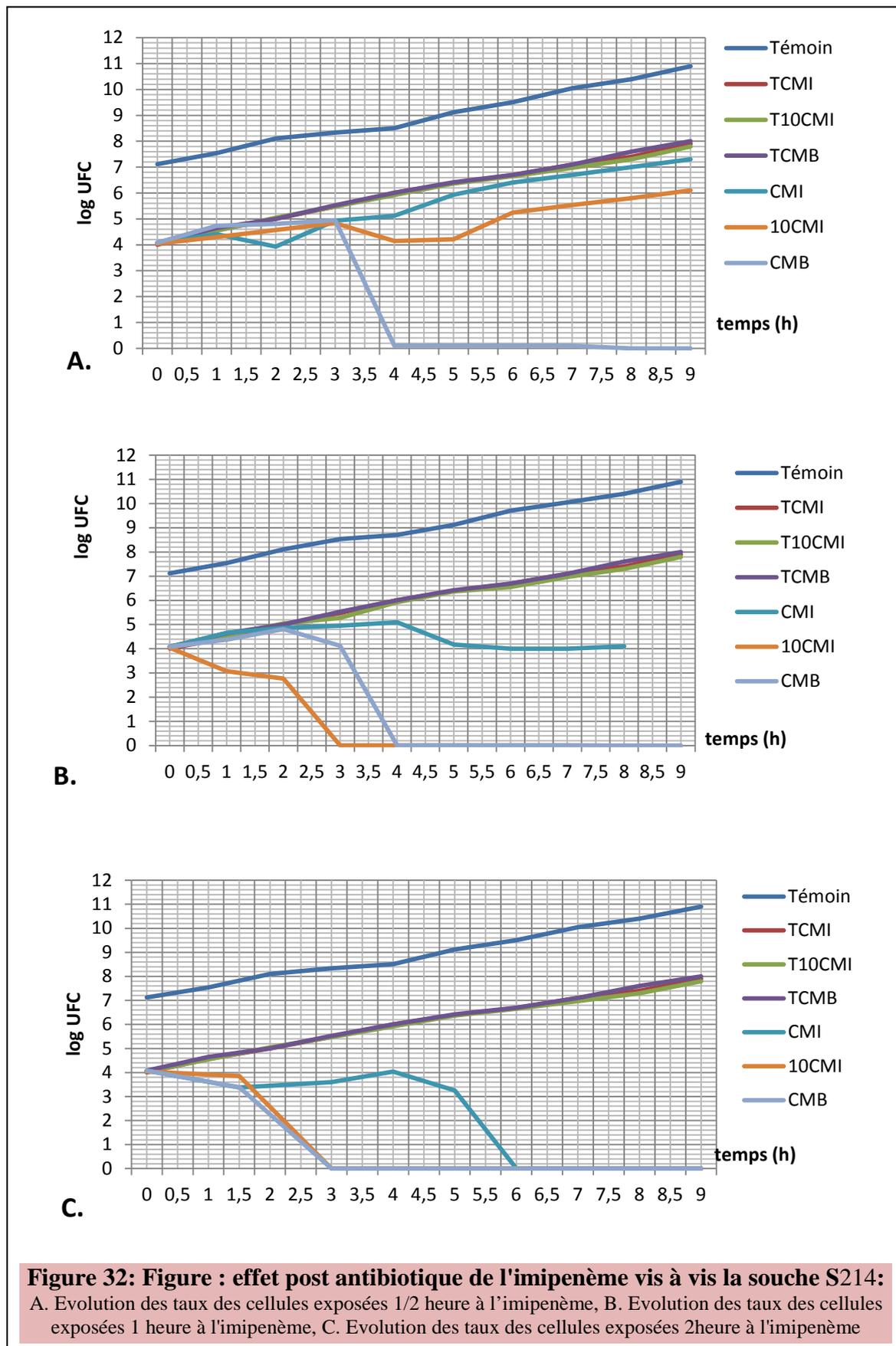
De même, les résultats de détermination des concentrations inhibitrices confirment que cette souche est résistante avec une CMI de 115mg/l. Ils montrent aussi que l'antibiotique est bactéricide à son égard. Les résultats consignés dans le tableau 39, montrent qu'après 0.5h de contact, l'effet post antibiotique est plus long pour la concentration CMI=CMB que pour la concentration 10CMI, qui est 10 fois plus élevée. La prolongation de temps de contact aux différentes concentrations permet de remarquer l'absence de cette effet pour la concentration CMI ; mais il est de 2.5h pour la concentration 10CMI. Après 1h de contact à la concentration CMI=CMB ; les taux cellulaires continuent la progression logarithmique après élimination de l'antibiotique.

La prolongation de temps de contact à 2h de temps permet de remarquer une prolongation de l'effet post antibiotique ; il est e 7h pour les cellules exposées à la concentration CMI et de 3.41h pour celles exposées à la concentration 10CMI.

La figure 33.A. montre que les taux des cellules de la souche S1114 diminuent de 0,63log

Les résultats de l'antibiogramme de la souche S16513 montrent qu'elle est résistante à cet

La comparaison des courbes de la souche S1014 permet de remarquer que **4 heures** pourraient présenter un temps critique. Elle présente le point commun entre l'apparition de 0UFC/ml pour les cellules exposées à la concentration CMB et le point de départ de diminution des taux des cellules exposées à la concentration CMI.



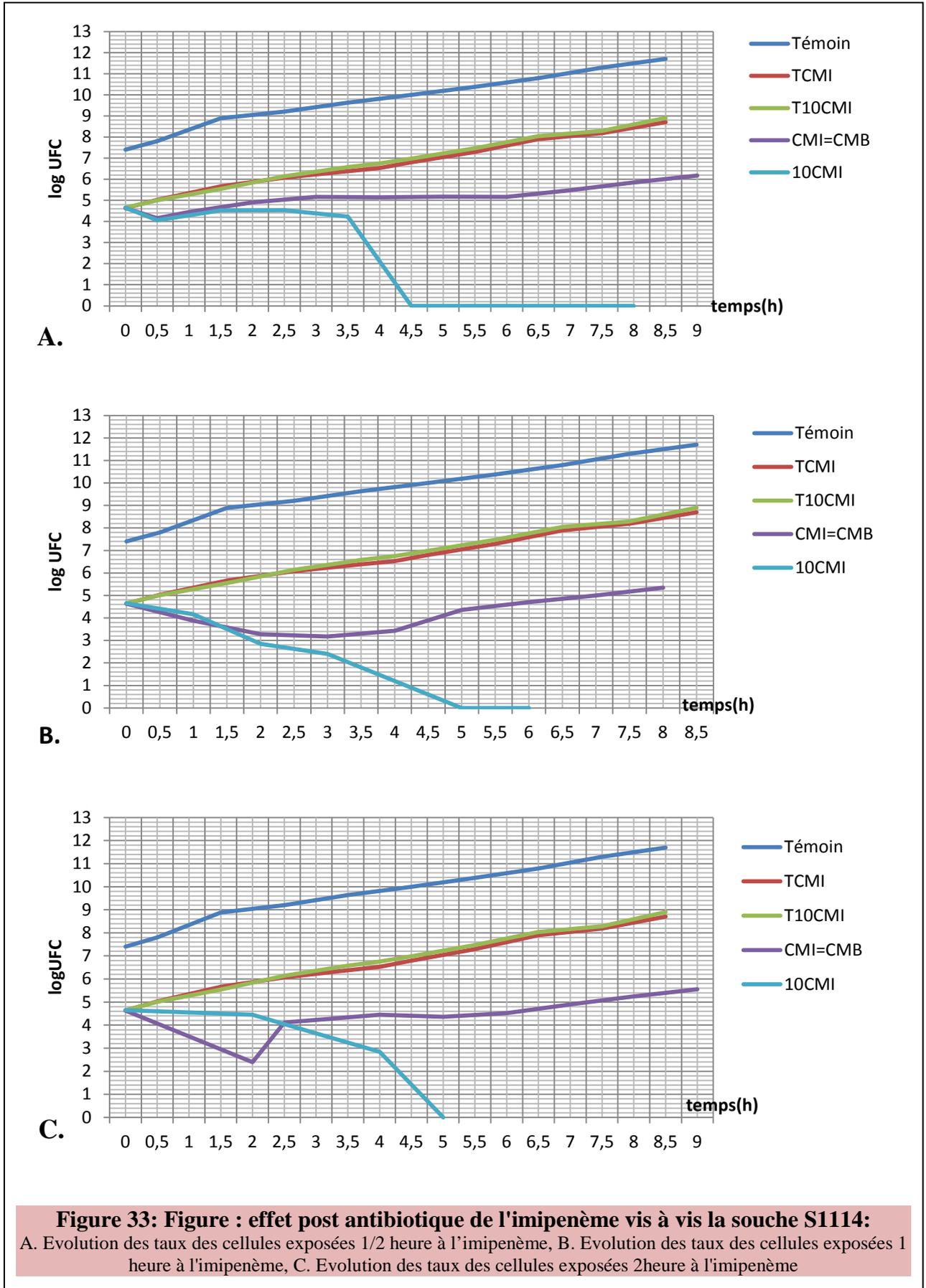


Tableau 39 : résultats de la recherche de l'effet post antibiotique de l'imipenème

souches	Retard de croissance	Temps d'exposition à l'imipenème/Concentration testées								
		1/2heure			1heure			2heure		
		[CMI]	[CMB]	[10CMI]	[CMI]	[CMB]	[10CMI]	[CMI]	[CMB]	[10CMI]
S 1014 8CMI=CMB 11.5	t0UFC(h)	/	3,5	3,5	6	1	1	5	4	2
	tEPA(h)	8,5	>9.5	>9.5	>7	>7	>7	>7	>7	>7
S1114 CMB=4CMI 25.6	t0UFC(h)	/	/	4			4			3
	tEPA(h)	7.75	>9	>9	3.75	3.75	>8	5.75	5.75	>7
S214 CMB=18CMI 51.2	t0UFC(h)	/	3.5	/	/	3	2	4	1	1
	tEPA(h)	4.5	>7	5.5	>6	>6	>6	>6	>6	>6
S16513 CMI=CMB 115	t0UFC(h)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	tEPA(h)	7.25	7.25	5,25	0	0	2.5	7	7	3.41

# DISCUSSION

### **Discussion**

*P. aeruginosa*, est une espèce opportuniste impliquée dans plusieurs cas d'infections. Elle est bien connue par sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques (**Landman, et al., 2007**). De nombreuses études montrent que cette bactérie a des tendances à des taux très élevés de résistance.

### **Prélèvement**

Sur une période de cinq ans s'étalant de Janvier 2011 à Décembre 2016, on a pu collecter 535 souches issues de différents prélèvements pathologiques, provenant de laboratoire de microbiologie de différents établissements.

Selon l'ONERBA (*Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques*), Pour contribuer à définir les indications thérapeutiques des antibiotiques, il existe quelques paramètres pertinents qui peuvent accompagner la demande d'analyse et sont disponibles dans les laboratoires de microbiologie médicale (site de prélèvement, malade hospitalisé ou consultant...). Ces paramètres sont sous réserve doivent être présentés. En fonction des données statistiques de prévalence de la résistance, ils constituent une première source d'informations qui contribuent à définir les indications des antibiotiques. Ceci pour aider les prescripteurs, ainsi que les sociétés savantes et les autorités sanitaires, dans le cadre de l'établissement de recommandations concernant l'antibiothérapie et le bon usage des antibiotiques. La prévalence de la résistance doit être établie pour des situations cliniques (infection documentée) dont le contexte épidémiologique est bien défini.

Il s'agit, de dégager des profils de probabilité d'activité des principaux antibiotiques. Pour cela, il faut prendre en compte des paramètres connus pour être statistiquement associés à la prévalence de la résistance, et qui constituent des facteurs de risque de résistance pour le type d'infection considéré tels que : âge, antécédents d'antibiothérapie, antécédents d'hospitalisation... (**ONERBA, 1998 ; ONERBA 2015**).

La prise en compte de ces paramètres, qui sont des facteurs de risques discriminants, est très utile lorsqu'on veut analyser les résultats de la surveillance obtenus à partir des échantillons reçus par les laboratoires médicaux.

Les résultats de notre étude montrent que les femmes sont plus prédisposées à l'infection par cette espèce par rapport aux hommes mais avec une légère différence de 1.68%. Un sexe ratio de 1.03 montre que le sexe ne présente pas une grande importance comme facteur

## Discussion

---

déterminant.

Malheureusement, dans notre enquête, 70,09% des fiches ne mentionnent pas le service (Figure 10, Tableau 04). De même, 60% des fiches (321/535) ne mentionnent pas l'âge de patient infecté. Ces contraintes de recueil des renseignements s'opposent à la bonne interprétation des résultats. De ce fait on ne pourrait pas confirmer la relation de l'âge et de sexe avec la prévalence de l'infection par cette bactérie.

Les prélèvements pour les quels on a pu se renseigner sur l'âge des malades, montrent que *P. aeruginosa* est un agent redoutable, incriminé dans les infections des personnes de différents âges (Tableau 01 ; 02). Cependant le pourcentage le plus élevé est observé chez les hommes dont les tranches d'âge entre 40-69 ans (Figure 08).

Dans le même cadre, l'étude de **Sahli et al. (2014)a.** qui est rétrospective de janvier 2008 à décembre 2012, portant sur les 66 souches de *P. aeruginosa* isolées de bactériémie, permet de remarquer qu'elles sont isolées dans 77 % chez les adultes, 15 % chez les enfants et 7.5 % chez le sujet âgé. La moitié des souches sont isolées chez des patients immunodéprimés.

En général, pour l'origine pathologique, les fiches de renseignement des souches collectées dans notre étude montrent que les infections urinaires par *P. aeruginosa* sont les plus redoutables. Elles sont fréquentes chez les deux sexes (Figure 09, Tableau 03).

Cependant, selon **Rolston et Bodey (1992)**, **El Amari et al. (2001)**, et **Sarlangue et al. (2006)**, *P. aeruginosa* est responsable de 70% des otites externes.

Selon l'étude de Chinbol et al. qui a été effectuée entre 2010-2013 sur 168 souches de *P. aeruginosa*, les prélèvements de pus présentent 25,6%, suivis des bactériémies 20,8% (**Chinbol et al., 2014**). Ces résultats concordent avec ceux de l'étude de **Meradji et al. (2016)**. Cette dernière s'est déroulée dans les hôpitaux de la ville d'Annaba pendant la période de 2014 et 2015. Elle a souligné que la fréquence de *P. aeruginosa* dans les prélèvements de pus par rapport aux autres produits pathologiques est dominante avec un pourcentage de 78%.

En 2015, au Cameroun, Hontense et ses collaborateurs ont réalisé une étude portant sur 34 souches de *P. aeruginosa* dont 41,2% étaient isolées des urines, 23,5% des hémocultures et 17,6% des suppurations (**Hontense et al., 2015**).

Les études menées par des laboratoires médicaux fédérés dans l'ONERBA montrent que *P. aeruginosa* est parmi les espèces de bacilles à Gram négatif, moins fréquentes et généralement plus résistantes, largement influencées par antécédents d'hospitalisation,

## ***Discussion***

---

antécédents de sondage urinaire, antécédents d'infection urinaire, antécédents d'antibiothérapie.

En pratique, médicale, les prélèvements des urines sont les plus simples par rapport aux autres prélèvements (sanguins, pleuraux....) et la disponibilité des tubes de prélèvement chez les pharmaciens pourraient faciliter la tâche aux patients, particulièrement non hospitalisés, pour faire ce type de prélèvement. De même au niveau sociologique les symptômes d'une infection urinaire sont les plus connus par la population. En outre, il n'existe pas une enquête qui permet d'apprécier l'effectif des patientes qui ont eu un suivi médical gynécologique pour des signes d'infection génitales et les exigences de réalisation des prélèvements vaginaux avant la prescription des traitements. Mais, vu le rapprochement des sites anatomiques (appareil génital, l'anus et voies urinaires), la question qui se pose : « comment peut-on expliquer la prévalence des infections urinaires par cette bactérie ? ». C'est vrai qu'il existe l'explication anatomique (urètre court de la femme), mais l'affinité de colonisation d'un site et la capacité de provoquer une infection par rapport à un autre site de voisinage peut participer à trouver des solutions pour lutter contre l'infection par *P. aeruginosa*.

### **Identification**

Dans notre étude on a remarqué que les souches collectées présentent différents aspects des colonies sur le même milieu de culture, pour des souches isolées à partir des origines similaires (exemple urine) et le même sexe.

En général, on a pu isoler des souches qui présentent différents aspects macroscopiques. On a remarqué que certaines souches ont perdu le pouvoir de produire les pigments spécifiques, en maintenant la production du géosmine (odeur caractéristique). Chez *P. aeruginosa* la pyoverdine est aussi un facteur de virulence nécessaire à l'infection de l'hôte, et une molécule signale pour la production d'autres facteurs de virulence (**Lamont et al., 2002**). De ce fait la question qui se pose : « ces souches deviennent elles moins virulentes après certains repiquages ou elles gardent la propriété mais elles ne l'expriment pas in vitro pour ne pas gaspiller d'énergie? ». Donc la compréhension de mécanisme d'induction de la sécrétion de la pyoverdine pourrait être utilisée à des fins de recherche médicale pour lutter contre cette bactérie pathogène pour l'homme.

L'hypothèse de l'existence d'une corrélation entre les aspects morphologique des colonies et la virulence des souches isolées est possible. Dans notre étude on n'a pas remarqué une corrélation entre la résistance aux antibactériens testés et les types des colonies. De même

pour les souches qui ont perdu le pouvoir de produire la pyocyanine par rapport aux autres qui n'ont pas perdu cette capacité même après conservation.

### **Résistance aux antibiotiques**

Les bactéries multirésistantes (BMR) posent des problèmes particuliers : diffusion épidémique, circulation des patients ou animaux porteurs, modes de transmission, menace de diffusion des gènes de résistance à d'autres espèces bactériennes... (ONERBA, 2001).

Raison pour la quelle, dans cette étude on a essayé de contribuer à la surveillance de *P. aeruginosa* par un suivi de l'évolution de la résistance des souches de cette espèce vis-à-vis les bêtalactamines et les aminosides. Au même titre, les taux de résistance de *P. aeruginosa* vis-à-vis des médicaments antipseudomonas font l'objet de recherche depuis deux décennies à travers le monde, tel que les études **Lavoie et al.** (1991), **Karlowsky et al.** (2003), **Flamm et al.** (2004), **Jones et al.** (2004), **Obritsch et al.** (2004), **Rhomberg et al.** (2007), **Rhomberg et Jones** (2007), **Rahal et al.** (2009) **Yayan et al.** (2015), **Kamga et al.** (2015), **Igbalajobi et al.** (2016), **Chengyi et al.** (2016), **Lila et al.** (2017), **Dou et al.** (2017)..... Elles mettent en évidence les données rapportées pour les isolats de plusieurs études de surveillance.

Cependant, la définition de la multirésistance n'est pas univoque et il est difficile de trouver des critères précis de multirésistance. Selon **Andremont** (1996), les BMR sont des bactéries qui ne sont sensibles qu'à un petit nombre de familles ou de sous familles d'antibiotiques (**Andremont**, 1996). Selon **Santré** (1998), *P. aeruginosa* est considérée comme multirésistante si elle présente au moins deux mécanismes de résistance (céphalosporinase hyperproduite, imperméabilité à l'imipénème, BLSE, résistance aux aminosides, à la ciprofloxacine).

Dans notre étude, nous avons testé une gamme des aminosides et des bêta-lactamines recommandés comme antipseudomonas. Les autres antibiotiques sont testés soit pour vérifier la résistance naturelle soit pour sélectionner les souches les plus résistantes.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que 86.76% des souches testées entre 2011 et 2013 étaient sensibles à la gentamicine. **Lavoie et al.** (1991) ont montré que seulement 58 % des souches étaient sensibles à la gentamicine en 1986-1988 (**Lavoie et al.**, 1991), contre 96% en 1996-1998 pour Montastruc (**Montastruc**, 1999). **Rahal et al.** entre 2008-2009 ont trouvé que l'évolution de la résistance à la gentamicine a été de 4%. Notre étude a montré que

## ***Discussion***

---

seulement 13.3% des souches testées sont résistantes à cet antibiotique. Alors que **Yayan et al. (2015)**, ont trouvé que 22% des souches sont résistantes à cet antibiotique (I=9.5%, R=22.0%).

L'étude de **Chengyi et al. (2016)** montre un haut niveau de résistance à la gentamicine (51,1%). Des résultats similaires ont été signalés par **Lila et al. (2017)**. Ces derniers ont remarqué que la résistance de *P. aeruginosa* à la gentamicine est de 47.2%, 59.4 et 56.6 en 2013, 2014 et 2015 respectivement.

Ce qui permettrait à conclure que la gentamicine peut être un antibiotique de choix pour certains malades ; d'où la nécessité de faire recours à l'antibiogramme même si dans certains pays l'utilisation de cet antibiotique est moins sûre qu'auparavant.

La tobramycine a un spectre d'activité étroit, mais elle est souvent utilisée pour éliminer *P. aeruginosa* (**Somayaji et Parkins, 2015**). Cet aminoside est couramment utilisé pour traiter différentes infections causées par des bactéries à Gram négatif (**Bulitta et al., 2015**). Il est principalement efficace contre *P. aeruginosa*. Toutefois, une résistance accrue de cette bactérie à cet antibiotique était évidente dans les tests de sensibilité effectués dans la présente étude et d'autres, telles que celles de **Yayan et al. (2015)** et de **Lila et al. (2017)**. Elles ont permis de remarquer que la résistance de *P. aeruginosa* à la tobramycine est de 35.9% en 2013, 60.5% en 2014 et de 54.5 en 2015.

Donc l'évolution de la résistance des souches de *P. aeruginosa* à ces antibiotiques n'est pas linéaire, elle est relative. Ce qui confirme que le recours à l'antibiogramme est indispensable et que ces aminosides restent parmi les antibiotiques de choix pour une thérapie contre cette bactérie.

La plupart des études ont rapporté que la gentamicine était l'aminoside le moins actif. Les taux les plus faibles de résistance étant signalés pour la tobramycine et l'amikacine. Ce qui se concorde avec les résultats de notre étude.

Parmi les aminosides, l'amikacine en particulier est considéré dans la littérature comme efficace, ce qui concorde avec les résultats de la présente étude. Les souches testées dans notre étude ont montré une sensibilité remarquable à cet antibiotique par rapport aux autres antibiotiques testés. Aucune souche résistante n'a été collectée entre 2011 et 2013. Cet antibiotique a montré le plus bas niveau de résistance, parmi les antibiotiques testés. Des résultats similaires sont publiés par **Sahli et al. (2014)b** et **Yayan et al. (2015)**. Cependant,

## *Discussion*

---

l'étude **Chengy et al. (2016)** qui avait comme objectif l'estimation de la prévalence de et de la résistance de *P. aeruginosa* aux antimicrobiens dans la pneumonie sous ventilation assistée, la pneumonie nosocomiale, et pneumonie acquise en communauté en Chine continentale a permis de marquer un taux de résistance de 22,5%, à l'amikacine. De même, sur un total de 553 d'isolats de *P. aeruginosa*, **Lila et al. (2017)** ont remarqué que la résistance à l'amikacine est de 38.3% en 2013 et de 59% en 2014 et de 52.7% en 2015. Ce qui montre la capacité de cette bactérie à développer une résistance même à cet antibiotique.

En général, la pipéracilline a le plus large spectre d'activité de toutes les pénicillines contre *Pseudomonas*. Il est révélé encore efficace contre les souches testées dans notre étude, avec un taux de sensibilité de 96.7 %. Seulement 3.3% des souches testées étaient résistantes à cet antibiotique.

Dans la ville de Sétif, **Sahli et al. (2014)b** ont observé un taux de résistance de 24.6% à la pipéracilline. Des taux plus importants ont été notés par **Lila et al. (2017)** ; Ils ont remarqué que la résistance de *P. aeruginosa* à la piperacilline est de 56.2% en 2013, 65.4% en 2014 et de 68.4% en 2015 (**Lila et al., 2017**)

Le traitement par pipéracilline-tazobactam est controversé en raison de la réduction sensibilité de *Pseudomonas* (**Tam et al., 2008**). Aussi, les études de **Riou et al. (2010)** **Yayan et al. (2015)** ont signalé des résistances similaires de *P. aeruginosa* à la pipéracilline ; elles étaient autour de 27%. Une efficacité réduite de pipéracilline-tazobactam, qui était l'antibiotique le plus couramment utilisé et le plus fréquemment testé sur les antibiogrammes des patients, a également été observée chez les patients atteints de pneumonie due à *P. aeruginosa* dans l'étude de **Yayan et al. (2015)**.

Notre étude nous a permis d'observer une augmentation considérable de la résistance au ceftazidime. **Sahli et al. (2014)b** ont observé un taux de résistance de 14.3 à cet antibiotique.

**Castanheira et al. (2014)** ont considéré la ceftazidime comme l'antibiotique le plus efficace parmi le groupe des céphalosporines pour le traitement de la pneumonie due à *P. aeruginosa*.

Cependant, la ceftazidime a montré une faible activité contre *Pseudomonas* dans l'enquête de **Yayan et al. (2015)**. Le suivi de l'évolution de la résistance des isolats cliniques par **Lila et al. (2017)** a permis de remarquer que la résistance de *P. aeruginosa* à la ceftazidime, est de 59.8%, 37.3% et 42% en 2013, 2014, 2015 respectivement (**Lila et al., 2017**)

En raison de leur très large spectre d'activité, les carbapénèmes sont également efficaces

## ***Discussion***

---

contre *P. aeruginosa*. Dans notre étude, la résistance à l'imipenème a particulièrement présenté le plus faible taux de résistance (3.3%).

On a remarqué aussi que l'augmentation des taux de souches résistantes à l'imipenème n'a pas dépassé 1% entre 2011 et 2013, alors qu'en 2016 elle est arrivée à 13%.

dix ans avant notre étude **Allouch et al.**, ont remarqué un taux de résistance de l'ordre de 20.6% à cet antibiotique. Tandis que **Soraa et al. (2011)** ont trouvé un taux de résistance de 66,6%.

En Algérie, un taux de 50% de résistance vis-à-vis cette molécule a été rapportée par Touati en 2013 (**Touati, 2013**). Dans la ville d'Oran **Sefraoui (2015)** a observé un taux de 32% mais **Dali (2016)** a remarqué un taux de 21% en 2016 (**Dali 2016, Sefraoui 2015**), alors que d'après le quinzième rapport du AARN, le taux global de résistance est de 10,97% (**AARN, 2014**). Ces résultats concordent avec ceux de **Sahli et al. (2014)b** qui ont observé un taux de résistance de 10.9% dans la ville de Setif.

En Lybie et au Liban deux études montrent des taux très élevés de 87%, (**Mathlouthi, 2015**).

Dans la même période, **Yayan et al. (2015)** ont constaté que 28.6% des souches testées sont résistantes à cet antibiotique (I=0.6%, R=28.6%).

En chine, l'étude de **Chengyi et al. (2016)** montre un taux de résistance de 20,0% à l'imipenème. **Lila et al. (2017)** ont remarqué que la résistance de *P. aeruginosa* à l'imipenème est de 25.2% en 2013, 26.5 en 2014 et de 37.7 en 2015. Ce qui présente une évolution linéaire dans le temps.

De ce fait même la prescription de cet antibiotique en cas d'infection par cette espèce sans antibiogramme peut poser des problèmes thérapeutiques.

**Carmeli et al. (1999)** qui ont étudié le risque d'émergence de la résistance associée à la piperacilline, la ceftazidime, la ciprofloxacine et l'imipenème, ont observé un risque d'émergence de la résistance variable, maximal pour l'imipenème.

## Discussion

---

En général, la résistance aux antimicrobiens dans différentes régions géographiques est un paramètre qui fournit des informations utiles qui contribuent à avoir l'image globale de la résistance aux antimicrobiens. Selon les données d'EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance) pour 2014, les pourcentages de résistance chez *P. aeruginosa* ont été signalés, en particulier de l'Est et du Sud-Est d'Europe ; ceux des isolats résistants des Pays-Bas et de Roumanie allaient de 4,4% à 58,5%. Les augmentations significatives dans les tendances de résistance ont été observées pour trois pays (Allemagne, Hongrie et Slovaquie) (AER, 2014).

Comme signalés dans de nombreuses études, les isolats de *P. aeruginosa* sont résistants à une variété croissante d'antibiotiques, y compris céphalosporines de quatrième génération. Des niveaux de résistance hauts aux bêta-lactamines ont été signalés aux États-Unis, en Europe et en Amérique du Sud (Kos et al., 2015). Les différences dans les taux de la résistance aux antimicrobiens généralement était lié à la fréquence d'utilisation, prescription et les pratiques de l'hôpital. Bayani et al. (2012) ont trouvé que le taux de résistance de *P. aeruginosa* à l'amikacine, à la ceftazidime, à l'imipénème, était de 53,3%, 43,3%, 40% respectivement, et la prévalence d'isolats résistants a augmenté (Bayani et al., 2012). Une autre étude a rapporté les taux de résistance suivants pipéracilline 45%, 36,1%, gentamicine 37,3% et l'amikacine 30% (Dash et al., 2014). L'étude de Lila et al. (2017) a montré que *P. aeruginosa* était très résistant aux aminosides, y compris l'amikacine (52,7%), gentamicine (56,6%) et tobramycine (54,5%). Ce résultat contraste avec ceux de notre étude et avec ceux de Dash et al. (2014), qui prétend que l'amikacine a la plus haute sensibilité contre *P. aeruginosa*. Cependant, sur la base des résultats de l'étude de Lila et al. (2017), la résistance à ces antibiotiques est considérablement augmentée.

Pour les infections à *P. aeruginosa*, le carbapénème peut être le seul choix d'antibiotique. Raison pour laquelle, l'émergence de la résistance aux carbapénèmes est une préoccupation sérieuse (Liu et al., 2015). Dans diverses études à travers le monde, des taux variables de résistance de 3-60% ont été rapportés pour imipénème (Khan et Faiz, 2016).

L'acquisition d'un phénotype de résistance peut résulter de la sélection d'un mutant résistant ou de l'acquisition de gènes de résistance (Santré, 1998 ; Chaplain, 1997). De nombreuses études montrent que *P. aeruginosa* présente les taux de résistance les plus élevés aux antibiotiques antipseudomonas ; même pour les bêta lactamines et les aminosides. Elle montre des tendances à des taux très élevés de résistance.

## ***Discussion***

---

La résistance de *P. aeruginosa* aux bêtalactamines est due à l'existence de bêtalactamases à spectre étendu (**Lombardi et al., 2002**) et de métallo-bêtalactamases (**Farajzadeh et al., 2014**). Ce qui confère une résistance à la majorité des bêtalactamines, par un mécanisme de dégradation d'antibiotique (**Lombardi et al., 2002 ; Farajzadeh et al., 2014**). Ces enzymes ont la particularité de pouvoir hydrolyser les cycles  $\beta$ -lactames ; ce qui inactive l'antibiotique (**Chemelle, 2010**). Par conséquent, la détection immédiate de *P. aeruginosa* productrice de ces enzymes est essentielle pour le traitement précis des infections causées par cette bactérie.

Dans notre étude on a pu confirmer la mise en évidence de la production de BLSE chez une seule souche par le test de synergie. Chez les autres souches résistantes testées, la présence de cette enzyme est mise en évidence par le test de confirmation par double disque. En France, 11 % des souches de *P. aeruginosa* possèdent des  $\beta$ -lactamases transférables (**Nordmann, 2003**).

Dans la même période de notre étude **Touati et al. (2013)** ont décrit la première diffusion de souches de *P. aeruginosa* productrices de métallo-bêtalactamase VIM-2 dans 14 isolats cliniques au niveau d'Annaba, au Nord-Est algérien.

La majorité des souches produit une bêta lactamase à large spectre appelée Ampc qui agit sur plusieurs antibiotiques. Cependant, environ 800 bêta lactamases ont été décrites au moins 120 ont été retrouvées chez les souches de *P. aeruginosa* (**Zho et Hu, 2010**),

Même la combinaison d'un  $\beta$ -lactame antipseudomonale avec un aminoside qui a souvent été le traitement de choix pour ce pathogène n'empêche pas toujours l'émergence de la résistance médiée par d'AmpC aux bêta-lactames, et les échecs cliniques sont toujours un risque (**Juan et al., 2005 ; Masterton et al., 1987 ; Letendre et al., 1988; Sanders et Sanders, 1983 ; Sanders et Sanders, 1988; Scully et al., 1985**).

En l'absence de métallo-bêtalactamases, l'inactivation mutationnelle du gène *oprD* est le principal déterminant de la résistance aux carbapénèmes, en particulier à l'imipénème, chez les souches de *P. aeruginosa* (**Pirnay et al., 2002b**). Chez cette bactérie, la diminution de perméabilité s'expliquerait par la perte de la porine OprD responsable du transport de l'imipénème (**Murata et al., 2002**). Lors de traitement en monothérapie, la sélection de mutants déficients en OprD surviendrait chez 15 à 20 % des patients traités. La résistance  $\beta$ -lactamines par diminution de la perméabilité s'exprime habituellement à bas niveau. Dans certains cas, elle peut être associée à d'autres mécanismes de résistance comme l'efflux ou la production de  $\beta$ -lactamases (**Ochs et al., 1999**).

## Discussion

---

Généralement, les gènes codant pour ces enzymes se retrouvent sur des éléments transposables et font partie des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines des bactéries à Gram négatif. Ces dernières acquerraient d'autres mécanismes de résistance qui les protègent simultanément contre plusieurs antibiotiques ou n'expriment pas fortement ces enzymes (pas d'expression ou expression à des taux très faibles). Ce qui ne le rendraient pas détectable par la méthode utilisée dans notre étude et pourrait expliquer la non détection de cette enzyme dans la majorité des souches testées par le test de synergie. De plus les facteurs impliqués permettant la production de ces enzymes sont très compliqués et par fois sont contradictoires dans plusieurs études.

Au début le problème des isolats cliniques c'était ceux BLSE positifs. Les souches de *P. aeruginosa* de type sauvage ne produisent que des bas niveaux d'AmpC et sont sensibles à pénicillines, combinaisons d'inhibiteurs de pénicilline, céphalosporines, et les carbapénèmes (Sanders et Sanders, 1986). Cependant, lorsque la production d'AmpC est significativement augmentée, *P. aeruginosa* développe une résistance à tous les  $\beta$ -lactamines, à l'exception des carbapénèmes (Sanders et Sanders, 1986 ; Colom et al., 1995).

Les données de l'étude de Sanders et al., (1988), de 47 isolats cliniques surproduit AmpC, ont montré que 7 (15%) étaient résistants à l'imipénème.

Gutierrez et al. (2007) rapportent dans leur étude que 51% isolats cliniques de *P. aeruginosa* résistants aux carbapénèmes surproduit AmpC (Gutierrez et al., 2007). L'étude Lee et Ko (2012) a rapporté que l'absence de mutation dans la séquence oprD, pouvant causer la perte de fonction de la protéine OprD, chez les souches de *P. aeruginosa* sensible à l'imipénème (Lee et Ko, 2012). Une autre étude a décrit des souches co-exprimant une VIM-2 et la perte de la fonction de la porine OprD chez les isolats cliniques de *P. aeruginosa*. Ces résultats indiquent que l'inactivation mutationnelle du gène oprD était le principal mécanisme de résistance à l'imipénème chez les souches cliniques de *P. aeruginosa*, comme décrit précédemment dans de nombreuses études telles que celles de Li et al. (2012) et de Lee et Ko(2012).

La surproduction d'une pompe à efflux, OprD, et / ou production d'une carbapénémase de classe A / classe B). Ajoutant encore plus de complexité est le potentiel de mutation variantes de l'enzyme AmpC codée chromosomiquement pour fournir à *P. aeruginosa* une résistance au carbapénème (Rodriquez-Martinez et al., 2009).

Les modifications des acides aminés près des sites actifs de ces enzymes (AmpC) peuvent

## ***Discussion***

---

entraîner une augmentation de l'activité hydrolytique contre la ceftazidime et imipénème. Cependant, l'activité catalytique accrue de ces enzymes réduit seulement la sensibilité à l'imipénème. Ce qui pourrait montrer que la surproduction de ces AmpC à spectre étendu semble être une exigence pour le carbapénème (**Rodriguez-Martinez et al., 2009**).

La surproduction de l'enzyme AmpC chromosomiquement codée chez *P. aeruginosa* peut survenir soit par induction du gène ampC ou à travers un processus de dérégulation conduisant à une expression constitutive de haut niveau.

La surexpression à travers la voie d'induction se produit pendant l'exposition à des  $\beta$ -lactames ; par exemple la céfoxitine, l'imipénème et le clavulanate (**Labia et al., 1986; Lindberg et al., 1988; Stobberingh, 1988 ; Lister et al., 1999; Weber et Sanders, 1990**), mais le processus est réversible après élimination de l'agent inducteur. En revanche, la dérégulation se produit lorsque les protéines impliquées dans la voie de l'induction sont compromises par des mutations chromosomiques (**Honor et al., 1989 ; Langaee et al., 1998 ; Kuga et al., 2000 ; Juan et al., 2005**) et la céphalosporinase est constitutivement produite à un niveau élevé, même dans l'absence de  $\beta$ -lactame inducteur (**Langaee et al., 2000 ; Bagge et al., 2002**).

Les souches de *P. aeruginosa* peuvent transitionner à travers un phénotype de dérégulation partielle avant de réaliser la dérégulation complète d'AmpC. Dans les études de **Kong et al. (2005)** et **Moya et al. (2009)** qui visent à étudier les facteurs impliqués dans la régulation de l'expression de l'ampC de *P. aeruginosa*, les données ont été plus contradictoires et difficiles à comparer.

Ces données avec ceux trouvées dans notre étude, permettent de penser que pour les isolats cliniques, la recherche de ces enzymes doit s'effectuer immédiatement sans passer par de nombreux repiquages, subculture ou une période de conservation. Il se pourrait que le temps d'induction dépasse la vitesse de croissance des bactéries hors zone de diffusion de l'antibiotique.

L'analyse des phénotypes de résistance de nos souches vis-à-vis des B-lactamines qui ont été déterminés selon le schéma de Fauchere (**Fauchere, 1997**), montre clairement que le phénotype sauvage est majoritaire, ce qui se concorde avec les résultats obtenus par **Sefraoui (2015)**.

Les aminosides possèdent des groupements aminés et des groupements hydroxyles

## Discussion

---

nécessaires à leur activité. Ces groupements peuvent être la cible de trois classes d'enzymes : Les phosphotransférases ou APH (transfèrent un groupement phosphate sur les groupements hydroxyles), Les nucléotidyltransférases ou O-adenylyl (ANT ou AAD) qui agissent par adénylations des groupements hydroxyles, les acétyltransférases ou AAC qui catalysent l'acétylation des groupements aminés (**Jana et Deb, 2006 ; Azucena et Mobashery, 2001; Wright, 1999**). Toutes ces enzymes ont une localisation intracellulaire et elles peuvent être codées par des gènes chromosomiques, des plasmides, des éléments génétiques transposables ou par des intégrons. Ce qui rend évident d'avoir plusieurs situations : Un seul aminoside peut être inactivé par plusieurs enzymes, Une seule enzyme peut inactiver plusieurs antibiotiques et une seule souche peut produire plusieurs enzymes (**Bevilacqua, 2011**).

Bien que la gamme d'aminosides inactivée par des enzymes spécifiques est peu différente, la capacité de *P. aeruginosa* à porter les multiples gènes des enzymes inactivant ces molécules fournissent des souches ayant le potentiel de développer une résistance à tous les aminosides. La modification de la cible (ARNr 16S) représente plusieurs cas de résistance aux aminosides (**Fauchère, 1997**). En plus de la variété d'enzymes modifiant les aminosides, une résistance élevée à plusieurs aminosides peut être associée à la méthylation de l'ARNr 16S (**Yokoyama et al., 2003**). Il y a actuellement cinq enzymes ribosomales méthyltransférases caractérisées qui ont été trouvés dans le monde entier parmi les isolats cliniques de *P. aeruginosa* et Enterobacteriaceae (**Galimand et al., 2003; Yokoyama et al., 2003 ; Yamane et al., 2005 ; Wachino et al., 2006; Doi et al., 2007**). Tous les gènes codant pour ces enzymes ont été associé à des éléments génétiques mobiles (**Doi et al., 2004; Yamane et al., 2004 ; Galimand et al., 2005; Gonzalez-Zorn et al., 2005; Wachino et al., 2006**), suscitant des inquiétudes quant à leur large diffusion parmi les isolats de *P. aeruginosa* et d'autres bactéries bacilles Gram négatives (**Sanders et Sanders, 1986 ; Sanders, 1992 ; Colom et al., 1995 ; Campbell et al., 1997 ; Hanson et Sanders, 1999**).

En outre, chez *P. aeruginosa*, la pompe d'efflux MexXY est décrite comme la principale manifestation de la résistance aux aminosides. Cette bactérie acquièrent une résistance augmentée, mais transitoire envers plusieurs classes d'antibiotiques. Aussi, les résultats des analyses protéomiques indiquent que certaines protéines de la membrane externe sont surexprimées lorsque *P. aeruginosa* est mis en présence d'antibiotique (**Cockenpot, 2014**).

En parallèle, *P. aeruginosa* peut développer une résistance lors d'un traitement prolongé avec tous les agents antimicrobiens. Par conséquent, les isolats initialement sensibles peuvent

## ***Discussion***

---

devenir résistants dans les trois à quatre jours suivant le début du traitement. Le test d'isolats répétés peut être justifié **CLSI (2014)**. Ce qui pourrait expliquer certaines lacunes entre les résultats de l'antibiogramme et l'efficacité de l'antibiotique sélectionné.

Il est connu que la réplication des plasmides est indépendante de celle de chromosome. Ce qui permet d'avoir différentes souches pour le même isolat clinique et d'accepter qu'après certains repiquages dans un milieu neuf, ne contenant pas l'agent inducteurs (antibactérien), les isolats peuvent diminuer l'expression de la résistance.

Selon **Kettner et al. (1995)** et **Edelstein et al. (2003)** et, les N-amino-acétyltransférases (AAC) catalysent l'acétylation des fonctions  $-NH_2$  et leur modification participe à la résistance de ces espèces à la plupart des aminosides utilisés en thérapeutiques particulièrement à la gentamycine et à l'amikacine.

Le changement des O-nucléotidyltransférases (ANT) qui joue un rôle dans la nucléotidylation des fonctions  $-OH$  rend la bactérie résistante à la gentamycine (**Miller et al., 1997**).

L'émergence de méthyltransférases de l'ARN 16S conférant un haut niveau de résistance à tous les aminosides utilisés en pratique est un phénomène préoccupant qui nécessite un suivi épidémiologique (**Nguyen et Lambert, 2012**).

La détection de ces mécanismes peut être réalisée au moyen des antibiotiques marqueurs qui vont permettre d'individualiser les phénotypes de résistance (**Fauchère, 1997**).

Dans notre étude, on a constaté l'existence de 33 souches résistantes à la gentamicine et à la tobramycine mais sensibles à l'amikacine. On a isolé des souches résistantes avec des profils qui n'ont pas permis de les attribuer à un phénotype de résistance. Ce qui pourrait montrer l'existence de certains phénotypes de résistance inhabituels, non déterminés à l'heure actuelle.

La résistance d'origine chromosomique est peu importante, car les gènes sont soit peu exprimés et les souches qui les portent sont faiblement résistantes, soit ils sont non exprimés et les souches sont parfaitement sensibles. Un codage par des plasmides ou des éléments génétiques transposables ou des intégrons est plus fréquent. Il explique la diffusion importante des gènes de résistance aux aminosides parmi les souches bactériennes (**Bevilacqua, 2011**).

Les pseudomonas possèdent des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques, décrits sous le nom d'intégrons (**Naas et al., 1998**;

**Giuliani et al., 2005**). Ces intégrons peuvent héberger des cassettes ; éléments mobiles formés d'un gène et d'un site spécifique de recombinaison (**Hall et Collis, 1998**). Plusieurs classes d'intégrons ont été définies ; trois d'entre elles (classes 1, 2 et 3), bien caractérisées, sont impliquées dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques (**Hall et Collis, 1995**).

Les pseudomonas possèdent des cassettes décrites sur les intégrons de classe 1 (résistance aux bêta-lactamines, aux aminosides, au chloramphénicol, au triméthoprim et à la rifampicine) et de classe 3 (résistance aux bêta lactamines et aux aminosides) (**Ploy et al., 2000**).

En général, les profils de résistance des souches testées nous a permis de constater que *P. aeruginosa*, est capable de développer, au cours du temps, de nouveaux profils de résistance vis-à-vis les antipseudomonas disponibles. Ceci nécessite plus d'efforts pour qu'on puisse avoir une idée globale sur les mécanismes de résistance de cette espèce inquiétante.

### Résistance aux Antiseptiques

Dans notre étude on a testé trois antiseptiques ; les plus fréquemment utilisés en Algérie ; l'alcool iodé à 10 %, l'alcool chirurgical et l'eau oxygénée. Nos résultats montrent que l'eau oxygénée à 10 volume est l'antiseptique le plus efficace sur les souches de *P. aeruginosa* testées.

Il existe trois modes d'action possibles des désinfectants : destruction de la membrane cytoplasmique, réduction des échanges avec le milieu extérieur et destruction par oxydation du matériel cellulaire (**Massicotte et al., 2009**).

Les alcools sont actifs sur les bactéries Gram+ et Gram- et agissent rapidement (environ 30 secondes) (**Massicotte et al., 2009**). Leur activité antimicrobienne est rapide et à large spectre. Ils sont généralement plus actifs sur les bactéries à Gram négatif que sur celles à Gram positif (**Crémieux et Freney, 1995**). Ces agents antimicrobiens perturbent le métabolisme bactérien en induisant des liaisons au niveau de la membrane et par dénaturation des protéines (**CAPP-INFO, 2007**). Cependant les souches testées, dans cette étude, montrent une résistance très élevée à cet antiseptique.

L'iode sous forme moléculaire est capable de traverser rapidement la membrane cellulaire. Comme les autres halogénés, son action, est due à son pouvoir oxydant sur les protéines enzymatiques et membranaires (**CCLIN Paris-Nord, 2000**). Il induit la destruction des protéines membranaires et chromosomiques (halogénéation) (**CAPP-INFO, 2007**).

## ***Discussion***

---

Dans notre étude, on a remarqué que seulement un faible taux des souches est inhibé par cet antiseptique.

L'utilisation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) prend donc tout son sens lors d'une désinfection terminale (désinfection à large spectre ou de haut niveau). Dans le milieu de la santé québécois, il utilise des produits à base de peroxyde d'hydrogène. Ils réagissent très rapidement avec la matière (de quelques secondes à quelques minutes, au plus).

La molécule de peroxyde d'hydrogène est reconnue comme étant un oxydant puissant ; elle est fortement chargée électriquement. Cette caractéristique induit une mauvaise diffusion dans la membrane cellulaire (**Massicotte et al., 2009**). Son mode d'action est basé sur la libération d'oxygène entraînant l'oxydation des systèmes enzymatiques. Il a l'avantage de présenter un large spectre d'activité et une absence de résidus finaux (**Bartoli et Dusseau, 1995**). Il entraîne une désorganisation de la membrane cellulaire (**Maris, 1995**). Le  $H_2O_2$  peut traverser les membranes biologiques et former, le plus puissant des espèces réactives, le radical hydroxyle (OH), par interaction avec les métaux de transition comme  $Fe^{2+}$  et  $Cu^+$ . (**Gardès-Albert et al., 2003**; **Ahsan et al., 2003**), qui interagissent avec les lipides, protéines et ADN (**CAPP-INFO, 2007**).

La résistance des micro-organismes était principalement liée à la composition de la membrane cytoplasmique, qui est à la fois un obstacle physique et chimique.

Les désinfectants, pour être efficaces, doivent donc être en mesure de s'attaquer à la membrane cytoplasmique ou au contenu de la cellule. Ces modes d'action sont basés sur les interactions moléculaires entre les désinfectants et les composantes cellulaires en présence. Il ne faut pas oublier que la membrane cytoplasmique possède une partie polaire (hydrophile) et une partie hydrophobe (non polaire). Cette dernière nécessite l'utilisation de désinfectants qui attaquent les graisses (lipides) (**Massicotte et al., 2009**).

De ce fait, l'élément majeur de la résistance est la paroi de la cellule bactérienne. La majorité des antiseptiques et désinfectants exercent leur action essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique et doivent donc traverser la paroi.

La résistance acquise aux désinfectants et antiseptiques est moins fréquente que celle observée avec les antibiotiques, probablement en raison de la multiplicité des sites d'action des désinfectants et antiseptiques. Il résulte généralement de changements génétiques à l'intérieur de la cellule (**CAPP-INFO, 2007**).

## ***Discussion***

---

Comme *P. aeruginosa* appartient au spectre théorique de ces antiseptiques, il est probable que la tolérance des souches testées à ces produits montre qu'elles sont protégées par une enveloppe cellulaire spéciale qui les protège contre les agressions par l'alcool (minimum de lipide et de protéines), et aussi contre l'alcool iodé qui altère la membrane cytoplasmique par désorganisation de la bicouche lipidique provoquant la fuite, ou traverse la membrane externe ou la paroi bactérienne par diffusion passive. Cette enveloppe n'a pas protégé ces souches contre l'action de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est fortement chargée électriquement ; induit une mauvaise diffusion dans la membrane cellulaire et présente un mode d'action basé sur la libération d'oxygène entraînant une oxydation. Ce qui pose la question de chercher la différence majeure qui diffère l'enveloppe de cette espèce des autres espèces à Gram négatif.

Les résultats de l'antiseptogramme montrent aussi que les souches de cette espèce peuvent présenter certaine résistance à la chloration où certaines concentrations peuvent avoir seulement un effet bactériostatique.

Il est accepté par la communauté scientifique que la membrane externe est responsable des réponses variables aux antibiotiques et aux antiseptiques. Elle diffère de façon importante entre les genres. Celle des bactéries à Gram-, et la paroi des Mycobactéries jouent un rôle de barrière imperméable et sont responsables des résistances naturelles aux composés antibactériens. La structure de la paroi (première interface entre les bactéries et les molécules) est importante pour la compréhension de l'efficacité et du mécanisme d'action des composés antibactériens (**Maillard, 2002**). Donc, en terme de sensibilité aux antibiotiques et aux antiseptiques, la structure et la composition de la membrane externe est intéressante.

Dans la littérature quelques travaux publiés, montrent la possibilité de l'acquisition des résistances croisées entre les antibiotiques et entre les antibiotiques et les antiseptiques.

La non disponibilité d'un logiciel d'analyse de la variance à plusieurs critères des données qualitatives s'est opposé à la mise en évidence de degré de corrélation entre les différentes données de sensibilité des souches testées aux différents antibactériens choisis dans cette étude. Mais, en général, la comparaison des résultats des profils de sensibilité des souches collectées vis à vis les antibiotiques et les antiseptiques, nous a permis de remarquer que des souches sensibles aux antibiotiques sont résistantes aux antiseptiques et tolèrent les concentrations de chloration les plus élevées (2%) testées dans cette étude. Ce qui permet d'accepter, qu'il se pourrait que les souches de *P. aeruginosa* sensibles aux antibiotiques sont des fois des souches persistants en milieu hospitalier, donc elles pourraient être les plus

## ***Discussion***

---

dangereuses sur le plan probabilité d'infection car elles sont capables d'acquérir rapidement une résistance par transfert horizontal.

En outre *P. aeruginosa* est un micro-organisme omniprésent présent de nombreux environnements (**Harris et al., 1984 ; Pitt, 1998**); il peut être isolé de diverses sources, y compris les plantes, les animaux et les humains. La capacité de cette bactérie à survivre avec des exigences nutritionnelles minimales et de tolérer une variété de conditions physiques lui permis de persister à la fois dans la communauté et l'hôpital (**Pollack, 1995**)

En addition, *P. aeruginosa* est rarement un membre de la flore microbienne normale chez l'homme ; les taux de colonisation représentatifs pour des sites chez l'homme sont de 0 à 2% pour la peau, de 0 à 3,3% pour la muqueuse, de 0 à 6,6% pour la gorge et de 2,6 à 24% pour les échantillons des fèces (**Morrison et Wenzel, 1984**). Cependant, les taux de colonisation peuvent dépasser 50% pendant l'hospitalisation (**Pollack, 1995**) en particulier chez les patients ayant subi un traumatisme ou une brèche dans la peau ou la muqueuse par ventilation mécanique, trachéotomie, cathéters, chirurgie, ou des brûlures graves (**Thuong et al., 2003 ; Valles et al., 2004 ; Ohara et Itoh, 2003**). Les patients avec une immunité altérée ont des risques plus élevés pour la colonisation par cet micro-organisme (**Pollack, 1995**), et la perturbation de la flore microbienne normale résultant de la thérapie antimicrobienne a également été montré pour augmenter la colonisation par *P. aeruginosa* (**Blanc et al., 1998 ; Bonten et al., 1999 ; Takesue et al., 2002**).

Malgré les efforts radicaux dans le contrôle de l'infection et les améliorations dans le diagnostic moléculaire, l'origine et la source des gènes de résistance dans le monde sont mal connues et des travaux récents suggèrent que les animaux domestiques et sauvages, l'environnement mais également le tube digestif des mammifères et des humains pourraient représenter un réservoir et une source importante de gènes de résistance susceptibles d'être transmissibles à l'homme (**Al Bayssari, 2015**).

De ce fait cette bactérie pourrait échapper à l'inhibition par toutes les molécules antibactériennes. Cette probabilité demande de mettre l'accent sur les moyens de prévention pour limiter les cas d'infections par les *Pseudomonas* contre lesquelles l'antibiothérapie est difficile.

Ces données nous orientent à penser d'accentuer quelques travaux sur la qualité de microbiote? Pourquoi pas les cliniciens ne pratiquent pas des lavages intestinaux des patients

hospitalisés avant d'entamer une antibiothérapie et mettre des exigences d'hygiène corporelles et locales strictes dans les établissements de santé?

L'**ONERBA (2001)** déclare que la surveillance de la résistance au sein des espèces bactériennes permet de détecter l'apparition de souches de comportement anormal. Il s'agit de l'apparition souches de *P. aeruginosa* résistantes, de souches de sensibilité diminuée annonçant la présence d'un mécanisme pouvant constituer la première étape d'une évolution vers la résistance.

### **Concentrations inhibitrices (CMI, CMB)**

Dans notre étude, les valeurs des CMI et CMB sont confirmées dans les conditions standards recommandées par le **CA-SFM (2013)**.

Selon, **Courvalin et al. (1985)**, pour de nombreux couples espèce bactérienne-antibiotique, pour lesquels la résistance acquise est très marquée et entraîne un comportement phénotypique clairement différent du comportement sauvage ou sensible, l'utilisation des valeurs critiques et la catégorisation des souches en S, I ou R permet de surveiller la résistance acquise. Dans ces cas, les concentrations critiques et les diamètres critiques séparent sans ambiguïté la population bactérienne sensible des populations intermédiaires et résistantes. C'est le cas notamment de *P. aeruginosa* et de la ticarcilline, de la ceftazidime, de l'imipénème.

Pour d'autres couples espèce bactérienne-antibiotique, la résistance acquise ne se traduit pas par le changement de catégorie clinique, soit parce que l'expression phénotypique est peu marquée, soit en raison de l'extrême sensibilité naturelle de l'espèce à l'antibiotique en question. Pour ces couples, l'utilisation des valeurs critiques ne permet pas de déceler la résistance acquise, les souches de sensibilité diminuée n'étant pas classées dans la catégorie I ou R. C'est le cas, par exemple *P. aeruginosa* de sensibilité diminuée aux aminosides, en particulier à la tobramycine et à l'amikacine (**Courvalin et al., 1985**). Dans ces cas, il y a avantage à exprimer les résultats sous forme quantitative (diamètre de la zone d'inhibition, CMI) pour individualiser les souches de sensibilité diminuée, et donc suivre l'évolution de leur prévalence (**ONERBA, 2001**). Ce qui pourrait expliquer les résultats de notre étude pour quelques souches, où les zones des diamètres d'inhibition de l'antibiogramme ne concordent pas avec les valeurs des CMI.

## ***Discussion***

---

Des résultats similaires sont présents dans l'étude de **Wolff et al. (2009)** qui ont conclu que d'échecs cliniques pourrait être du, entre autres, au phénomènes de sélection de mutants résistants, surtout si l'infection est due à un micro-organisme présentant une CMI élevée tout en restant interprété comme sensible lors de la lecture de l'antibiogramme (**Wolff et al., 2009**).

La littérature montre que les aminosides sont des antibiotiques bactéricides. Alors que nos résultats montrent que pour les isolats cliniques testés, la gentamycine et l'amikacine, montrent des effets variables sur les souches testées. Pour certaines souches, sensibles sur antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé, on remarque un effet bactériostatique ou une tolérance des rapports  $CMB/CMI \geq 16$ . En outre, pour d'autres souches caractérisées comme résistantes par l'antibiogramme et par la détermination des CMI, les aminosides testés peuvent présenter un effet bactéricide avec un rapport  $CMB/CMI \leq 4$

La comparaison des résultats de détermination des concentrations inhibitrices (CMI, CMB, CMB/CMI) a permis de remarquer que des souches résistantes à la gentamycine présentent les rapports CMB/CMI élevés pour l'amikacine. Ce dernier qui présente une efficacité remarquable, ne montre qu'un effet bactériostatique. Ces souches sont généralement inhibées par un effet bactériostatique avec un rapport  $CMB/CMI > 4$  ou même présentent une tolérance à l'amikacine. Ce qui pourrait expliquer quelques échecs thérapeutiques face à des résultats qui n'ont pas été comptabilisés lors de lecture d'un antibiogramme.

Ces données montrent que les résultats de l'antibiogramme peuvent estimer la probabilité d'avoir des poussées des CMI pour quelques antibiotiques qualifiés comme efficaces selon cette méthode.

L'imipénème, dans la littérature, est un antibiotique bactéricide, alors que les résultats de notre étude montrent des effets variables vis-à-vis les souches testées ; les rapports CMB/CMI varient entre 1 et 32. La comparaison des résultats de l'antibiogramme avec ceux des valeurs de rapports CMB/CMI n'a pas révélé une relation directe de la sensibilité des souches à l'imipénème avec son action. Quelques souches sensibles montrent des valeurs  $\geq 4$  et même des valeurs  $\geq 16$ , alors que pour d'autres souches résistantes cet antibiotique présente des rapports  $CMB/CMI = 1$  ; ce qui lui confère un effet bactéricide.

La porine OprD de *P. aeruginosa* est une porine spécifique au substrat (**Trias et Nikaido.a, 1990; Trias.b, 1990**). Elle semble servir de portail d'entrée privilégié pour les carbapénèmes, et la perte d'OprD de la membrane externe diminue significativement la sensibilité de *P.*

## ***Discussion***

---

*aeruginosa* à carbapénèmes disponibles (Satake et al., 1991 ; Kohler, et al., 1999 ; Mushtaq et Livermore, 2004 ; Sakyo et al., 2006). Il a été montré qu'elle facilite la diffusion des acides aminés basique, les petits peptides qui contiennent ces acides aminés et les carbapénèmes dans la cellule (Trias et Nikaido, 1990a ; Trias et Nikaido, 1990b).

La perte de la porine résulte de mutations inactivant le gène oprD ou se traduisant par des substitutions d'acides aminés responsables de ses altérations structurales. Le gène oprD peut également être réprimé par certains régulateurs de pompes d'efflux telles que MexEF-OprN (Richardot, 2015).

L'impact relatif sur la puissance antibactérienne des carbapénèmes, peut être mesuré par les augmentations des CMI (Sakyo et al., 2006). Ce qui pourrait expliquer les poussées des CMI observées pour les souches cliniques testées.

Les données de l'étude de Sakyo et al. (2006) ont montré que pour des paires mutantes isogéniques "sauvage" et déficientes en OprD, la perte d'OprD diminue la sensibilité de *P. aeruginosa* à 16 fois pour l'imipénème. Le deuxième aspect de la résistance médiée par OprD à considérer est l'impact clinique sur les carbapénèmes. Bien que la perte de L'OprD peut avoir un effet moindre sur la sensibilité à l'imipénème (basé sur les changements dans les CMI), ce mécanisme de résistance pousse souvent les CMI de l'imipénème au-dessus de point d'arrêt de la résistance. Dans l'étude de ces derniers, tous les 10 mutants déficients en OprD ont perdu leur sensibilité à l'imipénème, avec CMI de 4 µg/ml (Sakyo et al., 2006).

Les études de (Brown et Traczewski, 2005 ; Sakyo et al., 2006) montrent que l'impact de la déficience en OprD sur la puissance des carbapénèmes n'est pas toujours de pousser les CMI au-dessus du point critique de sensibilité.

Selon Lister et al. (2009), il semble que *P. aeruginosa* utilise de multiples débuts des sites et mécanismes transcriptionnels pour réguler l'expression de l'oprD, selon les conditions de croissance rencontrées (milieu de culture bouillon Mueller Hinton).

La régulation de la transcription oprD est directement ou indirectement, à travers des facteurs non identifiés conduisant à la résistance à l'imipénème chez les isolats de *P. aeruginosa* (Ochs et al., 1999).

De plus au niveau moléculaire, la grande imperméabilité de la membrane externe de *P. aeruginosa* peut jouer un rôle important en permettant la surproduction AmpC pour pousser les CMI au-dessus du seuil de résistance (Hancock et Brinkman, 2002). Alors que la

## Discussion

---

résistance à la plupart des  $\beta$ -lactames apparaît comme résultat de la surproduction AmpC. Cependant, une relation définitive entre *P. aeruginosa*, AmpC et la sensibilité aux carbapénèmes reste convoluted. Des souches déficientes en AmpC de *P. aeruginosa* ont été créées grâce à l'exposition d'échange allélique qui augmente significativement la sensibilité à l'imipénème  $\geq 4$  fois (Masuda et al., 2000). De même, des isolats supplémentaires de *P. aeruginosa*, définis comme AmpC déficient peuvent encore produire AmpC, montrent également une sensibilité augmentée à l'imipénème (Livermore et Yang, 1987 ; Livermore, 1992 ; Mushtaq et Livermore, 2004). Ces données suggèrent que l'AmpC peut jouer un rôle dans le niveau de sensibilité intrinsèque de *P. aeruginosa* aux carbapénèmes. En revanche, les données publiées ont suggéré que la surproduction d'AmpC ne joue pas un rôle discernable dans le développement de la résistance à ces molécules chez les isolats de *P. aeruginosa*. Parmi les mutants isogéniques sélectionnés avec les  $\beta$ -lactames, la surproduction AmpC ne diminue pas la sensibilité de *P. aeruginosa* aux carbapénèmes (Gates et al., 1986 ; Livermore, 1992 ; Mushtaq et Livermore, 2004 ; Wolter et al., 2005). En outre, la surproduction d'AmpC dans des isolats cliniques de *P. aeruginosa* sensibles aux carbapénèmes ont été signalés.

Le processus d'induction AmpC nécessite la liaison d'un inducteur inhibiteur de  $\beta$ -lactame ou de  $\beta$ -lactamase (par exemple : céfoxitine, imipénème, ou clavulanate) aux protéines de liaison à la pénicilline (PBP) (Oliva et al., 1989 ; Sanders et al., 1997 ; Pfeifle et al., 2000). L'induction de AmpC ne résulte pas des interactions de toutes les  $\beta$ -lactames avec les PBP, il est clairement possible qu'il existe quelque chose de spécifique sur les interactions de l'induction des composés tels que la céfoxitine, l'imipénème et le clavulanate.

Les données de l'étude de Moya et al. (2009) avec *P. aeruginosa*, ont démontré que la perte du non-essentiel protéine PBP4 de faible poids moléculaire est associée à l'augmentation de l'expression de l'ampC et dérépression partielle de ampC. Bien que ces expériences aient clairement démontré une association entre PBP4 et la dérépression de l'ampC, les auteurs ont conclu que PBP4 joue un rôle dans l'induction ampC. Cependant, Moya et al. (2009), suggérant que PBP4 n'est pas essentiel pour la voie d'induction (Moya et al., 2009).

Campbell et al. (1997) ont décrit trois phénotypes suivants l'expression de l'ampC: bas (type sauvage), modérée, haut niveau (constitutive) (Campbell et al., 1997).

Une autre complexité est que Les souches de *P. aeruginosa* surproductrices d'AmpC ne présentent pas de mutations dans la région intergénique (ampR, ampD, ou l'ampR-ampC) et

## ***Discussion***

---

ne présentent pas de changements dans le niveau d'expression de l'ampD (**Juan et al., 2005 ; Schmidtke et Hanson, 2008; Wolter et al., 2007**).

La sensibilité aux  $\beta$ -lactames n'a pas été associée à des changements de niveau d'expression de l'ampC (**Hancock et Brinkman, 2002**).

Ce qui pourrait expliquer les valeurs élevées des CMI caractérisées dans notre étude ; les différences entre les résultats de l'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé et ceux de détermination des CMI, peuvent être dues au temps nécessaire pour l'induction, la déficience en OprD et/ou le retard de croissance des souches exposées à des concentrations décroissantes de l'antibiotique au tour de disque de l'antibiotique. Ce qui nécessite un temps d'adaptation ou de production des métabolites qui contrôlent la diffusion des substrats pour les cellules existantes dans la zone de diffusion de l'antibiotique par rapport aux autres qui se retrouvent dans un environnement exempt (loin) de celui-ci. Alors que ces dernières épuisent les sources des nutriments et libèrent des métabolites secondaires qui pourraient jouer un rôle secondaire dans la production des signaux diffusibles dans le milieu de culture. Ce dernier qui est un milieu non renouvelée (croissance en batch) met des limites physiques, chimiques et même nutritionnelles.

L'étude de **Vettoretti (2009)**, a révélé chez la plupart des porteurs chroniques une diversification parfois extrême des profils de résistance au cours du temps. Aucun clone n'était partagé entre 6 patients étudiés, traduisant l'absence de contamination croisée pendant la période de l'étude (1998-2006). Le plus souvent, la souche de primo-colonisation évolue pour donner naissance à des sous-populations dont les niveaux de résistance fluctuent ; certaines d'entre elles évoluent vers la mutirésistance, d'autres, au contraire, deviennent hypersensibles à certains antibiotiques. Ainsi, dans près de 30 % des cas et chez près d'un patient sur deux, les souches deviennent hypersensibles aux Béta-lactamines. Ils ont montré que ce phénotype particulier, analysé chez 11 isolats résulte d'un déficit dans le système d'efflux actif MexAB-OprM pouvant impliquer, soit la sous-expression du gène mexB, soit la production d'une protéine MexB ou MexA altérée. Chez d'autres isolats, le système MexAB-OprM est à priori intact, mais non fonctionnel. Ces résultats montrent que *P. aeruginosa* peut s'adapter in vivo à la pression exercée par les aminosides en modifiant non plus, la quantité de systèmes d'efflux produite, mais la pompe elle-même. Toutefois, cette substitution n'explique qu'en partie les hauts niveaux de résistance (augmentation des CMI d'un facteur de 16) conférés par le système MexXY (PprM) chez certaines souches ; ce qui suggère la présence

## ***Discussion***

---

de mécanismes additionnels susceptibles de moduler l'efficacité de cette pompe (**Vettoretti, 2009**).

Les mécanismes les plus complexes et intrigants ayant un impact la transcription de *oprD* peuvent-être ceux qui sont liés à la régulation de l'expression de la pompe d'efflux *mexEF-oprN* (**Kohler et al., 1999**). Ces mécanismes de corégulation mettent en évidence la complexité à laquelle *P. aeruginosa* est capable de réguler l'expression de mécanisme de la résistance et c'est pourquoi il est parfois difficile de lier définitivement les phénotypes aux changements dans un mécanisme spécifique (**Lister et al., 2009**).

En outre, Les pompes d'efflux ont été catégorisées en cinq superfamilles, basées principalement sur l'identité de la séquence d'acides aminés, la source d'énergie nécessaire pour conduire l'exportation, et les spécificités de substrat des différentes pompes (**Saier et al., 1998 ; Van Bambeke et al., 2000**).

Les pseudomonas sont des bactéries qui cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques, imposant une demande régulière de confirmation de l'efficacité des molécules à choisir (**Widmer et al., 1993; Pellegrino et al., 2002**).

De ce fait les souches de cette espèce pourraient échapper à l'inhibition par toutes les molécules antibactériennes. C'est vrai que les études de la surveillance nationale et internationale fournissent des données importantes à prendre en considération. Mais ces études n'abordent pas le potentiel de taux de la résistance dans les communautés individuelles et les hôpitaux de même région géographique. Donc la prévalence des souches multirésistantes est encore un défi thérapeutique plus sérieux.

Dans notre étude, la comparaison des résultats des antibiogrammes et ceux de l'antiseptogrammes n'a pas révélé une corrélation entre la résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques testés ; autrement dit, l'existence d'une résistance croisé entre bêta-lactamines/aminosides/alcool/alcool iodé/eau oxygénée/ chlore. Quelques souches sensibles à la totalité des antibiotiques testées sont les plus résistantes aux antiseptiques testés. Ce qui montre que les souches les plus sensibles aux antibiotiques peuvent être les plus persistantes en milieu hospitalier, alors qu'elles n'ont jamais fait l'objet d'un projet de surveillance.

La littérature confirme que cette bactérie a un pouvoir pathogène particulier sur les personnes dont les barrières sont altérées. Donc la question qui s'oppose : est ce que vraiment les souches multirésistantes qui menacent les personnes hospitalisées ou se sont celles qui sont

## ***Discussion***

---

persistantes dans l'environnement des malades et peuvent développer des résistances après colonisation ?

Cette probabilité demande de mettre l'accent sur les moyens de prévention pour limiter les cas d'infection par les *Pseudomonas* contre lesquelles l'antibiothérapie est difficile.

En plus, les résultats de l'antiseptogramme montrent un effet puissant de peroxyde d'hydrogène par rapport à l'alcool et à l'iode et une résistance à certaines concentrations de l'eau chlorée permettent de penser qu'il se pourrait que la capacité de cette bactérie à s'échapper à l'action des antimicrobiens soit due à une richesse enzymatique puissante extracellulaire et/ou lipolysaccharides périphériques.

La lutte contre les bactéries résistantes doit être une lutte quotidienne. Donc l'isolement de plus en plus fréquent de ces bactéries, n'est pas une fatalité et la diminution de l'incidence et de la prévalence doivent passer par des mesures d'hygiène et une meilleure utilisation des antibiotiques en pratique quotidienne.

L'OMS appelle aussi l'attention de tous sur la nécessité de mettre au point de nouveaux produits de diagnostic, de nouveaux antibiotiques et d'autres outils pour permettre aux professionnels de la santé de garder leur avancé sur la progression des résistances. Les efforts mondiaux passer ont par la mise au point d'outils et de normes et l'amélioration de la collaboration dans le monde pour assurer le suivi de la pharmacorésistance, mesurer ses impacts sanitaires et économiques, et concevoir des solutions ciblées.

Le rapport de la région africaine de l'OMS fait état de lacunes majeures dans le suivi de la résistance aux antibiotiques dans la Région africaine, des données n'étant rassemblées que dans un nombre limité de pays. Bien qu'il ne soit pas possible d'évaluer la véritable ampleur du problème, compte tenu du manque de données, celles dont ils disposent sont inquiétantes. Une résistance importante est constatée pour plusieurs bactéries qui se sont propagées dans les hôpitaux et les communautés (OMS, 2014).

**Hoffman et al. (2005), Davies et al. (2006) et Tsai et al. (2015)** déduisent que les concentrations subinhibitrices des antibiotiques peuvent agir comme des molécules signal et moduler les phénotypes bactériens (**Hoffman et al., 2005 ; Davies et al., 2006 ; Tsai et al., 2015**). De même, les analyses transcriptomiques et protéomiques révèlent que le sous-inhibition des doses d'antibiotiques peuvent causer des changements significatifs dans les profils d'expression des gènes chez *P. aeruginosa* (**Lin et al., 2005 ; Davies et al., 2006 ;**

## ***Discussion***

---

**Aminov, 2009 ; Subrt et al., 2011, Tsai et al., 2015**). Donc ces résistances relèvent d'un mécanisme biochimique dont le support est génétique et elles peuvent être transmissibles à d'autres bactéries (**Wright, 2005**).

En revanche, Selon **Wax et al. (2008)**, les mécanismes de résistance des bactéries ne sont pas apparus suite à l'utilisation des antibiotiques, ils existaient bien avant afin de permettre à celles-ci de survivre en présence d'antimicrobiens environnementaux. Cependant leur introduction a favorisé une pression sélective pour certaines résistances.

Les systèmes de résistance aux antibiotiques des bactéries peuvent être d'origine intrinsèque, comme une membrane perméable, un état physiologique particulier, ou provenant d'éléments mobiles, comme les transposons, intégrons et plasmides. Ils fonctionnent généralement selon un des quatre modes d'actions qui inclut : l'altération ou la modification de la cible, l'inactivation de la molécule antibiotique, la réduction de son entrée dans la cellule et son expulsion vers le milieu externe.

Dans notre étude, on a remarqué que la diminution des zones d'inhibition pour certaines souches peut s'accompagner d'une poussée des CMI vers la catégorie intermédiaire ou résistante même si ces zones d'inhibition permettent d'inclure la souche dans la catégorie S.

Les souches résistantes présentent des CMI très élevées. Pour deux souches on n'a pas pu déterminer les CMB à cause de la turbidité marquée par la concentration très élevée de l'antibiotique.

Malgré la large distribution de *P. aeruginosa* dans la nature et le potentiel d'infections acquises dans la communauté, les infections graves par *P. aeruginosa* sont principalement acquises à l'hôpital.

Cette bactérie présente un défi thérapeutique sérieux lors du traitement des infections nosocomiales et communautaires où la sélection de l'antibiotique approprié pour initier la thérapie est essentielle pour optimiser les résultats cliniques (**Amazian, 2010**). Malheureusement, la sélection de l'antibiotique le plus approprié est compliquée par la capacité de *P. aeruginosa* à développer une résistance à plusieurs classes d'agents antibactériens, même au cours du traitement d'infection par cette bactérie.

De plus, les deux dernières décennies ont vu un déclin marqué de la découverte et de développement de nouveaux antibiotiques et une augmentation remarquable de la résistance à ceux qui sont actuellement disponibles. Ces données suggèrent que la résistance est

progressivement en augmentation. Cependant, une enquête plus approfondie est nécessaire, et les études moléculaires sont essentielles pour identifier les mécanismes de résistance.

### **Effet post antibiotique**

La comparaison des résultats de l'antibiorésistance des souches testées nous a permis de poser l'hypothèse si les antibiotiques testés, même en présence d'une résistance, ils peuvent atteindre leurs cibles et exercent leurs actions à des concentrations critiques. En parallèle, les mécanismes proposés par lesquels l'effet post antibiotique(EPA) se produit comprennent à la fois des dommages non létaux induits par l'agent antimicrobien et une persistance limitée de l'agent antimicrobien au niveau du site de liaison bactérien. La combinaison spécifique microorganisme-antimicrobien est le facteur le plus important pour influencer la présence et la durée de l'EPA (**Spivey, 1992**). Donc, ce mécanisme correspond à une fixation de l'antibiotique sur les cibles bactériennes.

L'EPA est défini comme la persistance de l'effet inhibiteur alors que l'antibiotique n'est plus présent dans le milieu ou comme le temps minimum pour que les bactéries retrouvent une vitesse de croissance normale.

Des facteurs supplémentaires sont les combinaisons d'antimicrobiens et les conditions expérimentales, y compris la concentration antimicrobienne et la durée de l'exposition aux antimicrobiens (**Spivey, 1992**). Ce qui permet de juger que l'effet post antibiotique influence la cinétique de l'antibiotique.

La dose infectieuse de *P. aeruginosa* varie selon les souches et les modes de transmission, donc elle est difficile à établir. Des études faites chez la souris permettent d'estimer que cette dose généralement est de  $2.7(10^7)$ UFC. Ce qui suggère une dose infectieuse chez l'homme relativement élevée (**Mena et Gerba, 2009**). En addition, l'activité des carbapénèmes n'est pas influencée par l'effet inoculum, contrairement aux autres  $\beta$ -lactamines. Il existe un effet post-antibiotique sur les bactéries à Gram négatif (**Grare, 2009**).

Raisons pour lesquelles, on a testé les concentrations CMI, CMB, 10CMI avec trois temps de contact (durée d'exposition) de 0.5h, 1h et 2h contre un inoculum standard au voisinage de  $10^7$ UFC/ml.

Notre étude a permis de mettre en évidence l'existence d'un effet post antibiotique des deux antibiotiques testés (amikacine, imipenème) sur les souches cliniques choisies ; même si elles sont résistantes à l'antibiotique en question.

## ***Discussion***

---

Les  $\beta$ -lactames et les aminosides sont des antibiotiques hydrophiles (Pea et al., 2005). Ils traversent la membrane externe à travers des canaux de porine (Nikaido, 1989 ; Yoshimura et Nikaido, 1985). Donc, la perte de porines spécifiques, peut diminuer la sensibilité de *P. aeruginosa* à certains agents antibactériens.

Pendant dans notre étude, on a pu mettre en évidence l'existence d'un effet post antibiotique même pour les souches qualifiées comme résistantes. Ce qui montre que l'antibiotique a atteint ses sites de fixation et a exercé une action sur les cellules.

En générale, l'amikacine a montré un effet post antibiotique pour les souches testées. Cet effet est supérieur à 8h à l'exception des cellules exposées 0.5h à la concentration CMI ; où on a observé un EPA court. Il est de 2.36h pour la souche S214, de 6h pour la souche S314 et de 6.25h pour la souche S914.

Les concentrations les plus élevées ont permis d'avoir un EPA avec régression des taux cellulaires à 0UFC/ml. Ces derniers sont observés à des intervalles différents qui varient entre 0h et 7h selon la souche, la concentration de l'antibiotique et le temps de contact.

Aussi on a remarqué qu'il n'existe pas de différence entre l'effet de CMB et celui de 10CMI.

Dans notre étude, La prolongation de temps de contact avec l'amikacine à 2h (Figure 28.C), pour la souche S914, a permis d'observer une régression des taux cellulaires pendant le temps de contact. On a remarqué aussi que la vitesse d'inhibition la plus élevée est celle de la concentration CMB ; elle est plus importante que celle de 10CMI. Alors que la CMB=8CMI, donc elle est inférieure à 10CMI. Mais les diminutions des taux sont proches de 1 log seulement. Par contre la mise en contact d'une heure a permis d'avoir un taux de 0UFC/ml.

Aussi, Pour un temps de contact de 30min, la figure 28.A permet de remarquer que le temps de 2,5h après élimination de l'antibiotique est le point de départ d'une phase particulière d'évolution des taux ; les cellules exposées à la concentration CMI entrent en phase stationnaire après une phase de déclin, les cellules exposées à la concentration 10CMI commencent une phase logarithmique de destruction et celles exposées à la concentration CMB sont inhibées totalement et présentent un taux de 0UFC/ml. Sachant que les courbes des témoins montrent que le temps de génération des souches est au voisinage de 45min.

La prolongation du temps de contact à 1h et à 2h (figure 28.B, 28.C) a permis d'avoir une inhibition de la totalité des cellules. Alors que le contact pendant 0.5h seulement n'a pas permis d'avoir 0UFC/ml pour la concentration CMI.

## ***Discussion***

---

Ceci concorde avec les données de la littérature, pour les souches sensibles, qui mentionnent que les aminosides sont des antibiotiques concentration-dépendant. Les résultats de notre étude montrent que même si la souche est résistante à l'amikacine, ce dernier peut atteindre le site d'action après exposition à des concentrations critiques.

Après une demi-heure de contact avec la concentration CMI, la comparaison des comportements des différentes souches testées, pour la recherche de l'effet post antibiotique (Figures : 25.A, 26.A, 27.A, 28.A, 29.A), nous a permis de remarquer que seulement, les taux de la souche S16513 a montré un effet post antibiotique avec une diminution jusqu'à 0UFC/ml. Le rapport CMB/CMI de cette souche est de 16 ; Ce qui permet de classer cet antibiotique comme bactériostatique.

Les taux cellulaires des autres souches restent presque constants après élimination de l'antibiotique. Alors que les taux de la souche S914 ont montré une diminution pendant 2h suivie par une stabilité pendant 3h, ensuite on remarque une progression exponentielle.

La diminution des taux cellulaires s'expliquerait par l'action de l'antibiotique sur quelques cellules. Donc il existe une portion de la population bactérienne qui a échappé à l'action de cet antibiotique dans les conditions déterminées. Mais la phase caractérisée par un taux constant, est ce qu'elle présente le taux des cellules qui ont pu échapper à l'action de l'antibiotique?

Si c'est le cas, donc, le temps nécessaire pour l'élimination de l'antibiotique dans ces conditions expérimentales est de 4.5h. Les autres souches aussi présentent une phase avec des taux constants, mais elle est plus longue. De ce fait même les souches sensibles peuvent combattre l'action dans ces conditions.

La souche S914 est caractérisée comme résistante sans possibilité de détermination de son phénotype de résistance aux aminosides selon le tableau de Fauchere. Elle est sensible uniquement à la tobramycine, sa CMI est de 80mg/ml et une CMB de 640mg/l ; donc un rapport CMB/CMI=8 ; ce qui qualifie l'amikacine comme bactériostatique vis-à-vis cette souche. Par contre la gentamycine a une action bactéricide sur cette souche avec une CMI de 32mg/l et un rapport CMB/CMI=4, donc elle est plus active, contrairement aux données de la littérature, qui la considère moins puissante que l'amikacine vis-à-vis les pseudomonas.

Les taux cellulaires de la souche S1114 restent constants pendant le temps de contact et après élimination de l'antibiotique. Ceux de la souche S214 restent aussi constants pendant le temps

## ***Discussion***

---

de suivi avec une diminution 3h après élimination de l'antibiotique, mais progressent après 1h pour arriver au mêmes taux initiaux après 1h.

En général, les résultats indiquent que l'exposition pendant une demi heure seulement a permis d'observer un ralentissement de croissance bactérienne même après élimination de l'antibiotique ; ce qui prouve la fixation de l'antibiotique aux cellules et l'existence d'une action inhibitrice.

La comparaison des résultats des figures 25.B, 26.B, 27.B, 28.B, 29.B, nous a permis de noter une diminution des taux cellulaires des souches S1014 et S914, pendant le temps de contact, mais et différentes variations comparable aux différentes phases de croissance cellulaire (stationnaire /latence, exponentielle, déclin)après élimination de l'antibiotique sans dépassé 1log. Les taux de la souche S914 font l'exception ; ils montrent, après élimination de l'antibiotique, une augmentation suivie d'une régression très accélérée ;ils arrivent à 0UFC/ml dans 1h. Alors que, les taux des cellules de la souche S1114 n'ont montré aucune évolution pendant le suivi ni pendant le temps de contact avec l'amikacine ni après élimination de cet antibiotique. La souche S214 a montré une augmentation pendant le temps de contact mais après élimination de l'antibiotique, on observe une phase stationnaire suivie d'une phase de déclin qui se termine par une destruction totale des cellules.

Seulement les taux de la souche S16513 arrivent à 0UFC/ml après un contact d'une heure à la concentration CMI (figure 25.B). Cependant, après 5h30min de l'élimination de l'antibiotique on remarque une augmentation du taux des cellules vivantes au voisinage de 2log. Le site d'action de l'amikacine est ribosomal, donc la persistance de l'inhibition après élimination de l'antibiotique est la preuve de l'accès de cytoplasme. L'augmentation du nombre pourrait être la conséquence de l'existence de défense cellulaire (système d'efflux/enzyme de dégradation/ et/ou le temps nécessaire pour la réparation cellulaire) sans faculté de formation des colonies.

La comparaison des résultats de l'évolution des taux cellulaires après une demi-heure et une heure de contact (Figure 26.A, 26.B), nous a permis de constater que la prolongation du temps d'exposition à la concentration CMI pour la souche S1014 a donné un effet post antibiotique afin de s'adapter/résister plus à la présence de cet antibiotique. Les variations des taux des cellules n'ont pas dépassé 2log équivalent de 50% des cellules exposées. Alors qu'ils ont diminué jusqu'au 0UFC/ml pour toutes les souches exposées une demi-heure seulement à cette concentration.

Après élimination de l'amikacine, les taux cellulaires de la souche S1014 ((Figure 26.B),

## ***Discussion***

---

exposées **une heure** aux différentes concentrations arrivent à 0UFC/ml, après 6h pour les cellules exposées à la concentration CMI, **5h** pour celle de la CMB. Celles de 10CMI, qui est la concentration la plus élevée par rapport aux autres concentrations testées, arrivent à 0UFC/ml après **1h**

Après exposition de deux heures aux concentrations testées (figure 26.C), a permis de remarquer que les taux des cellules vivantes ont diminué. Ils arrivent à 0UFC/ml pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. La diminution des cellules exposées à la concentration **CMB(4CMI)** est inférieure à **2log**. Alors que celle des cellules exposées à la concentration **CMI** est supérieure à **2log**. Après élimination de l'antibiotique, les taux des cellules exposées aux concentrations CMI et 10CMI augmentent directement pendant l'une demi-heure qui suit, alors que ceux des cellules exposées à la concentration CMB continuent à diminuer dans cette demi-heure. C'est vrai que ces taux montrent une augmentation une demi-heure plus tard mais, ils arrivent à 0UFC/ml après **1h30min** pour les cellules exposées à la concentration 10CMI, après **3h** pour les cellules exposées à la concentration CMB et après **5h** pour les cellules exposées à la concentration CMI.

La comparaison des évolutions des taux des cellules, exposées deux heures à la concentration CMI de chaque souche (Figure 25.C, 26.C, 27.C, 28.C, 29.C) nous a permis de remarquer que seulement les taux de la souche S1114 n'ont pas arrivé à 0UFC/ml.

Les deux souches (S16513, S1114), qui ont montré un effet post antibiotique avec régression jusqu'à 0UFC/ml après un contact d'une demi-heure à la concentration CMI (figure 25.A, 27.A), montrent des phases semblables au point de vu temps de variation des taux mais avec des vitesses variables.

La résistance à l'amikacine est plus fréquente, mais souvent de bas niveau (résistance par efflux). Selon **Afssaps**, la fréquence des résistances acquises est supérieure à 10 % (**Afssaps, 2011**).

C'est vrai que les aminosides sont caractérisés par une résistance adaptative à la première injection (diminution de la vitesse de bactéricidie, augmentation des CMI et diminution de la durée de l'EPA après la première injection).

Cependant, selon **Karlowsky et al. (1996)**, la résistance adaptative correspond à l'apparition d'une résistance phénotypique des bactéries ayant un premier contact de l'antibiotique. Leur CMI peut augmenter considérablement, pendant un laps de temps, de l'ordre de quelques

## ***Discussion***

---

heures à 24 à 36 heures. Cette augmentation de CMI s'accompagne d'une diminution de la vitesse de bactéricidie, ainsi que d'une diminution de l'EPA.

Donc, il se pourrait que chaque souche soit caractérisée par une vitesse de diffusion de l'antibiotique et sa substitution après un temps adéquat de contact (1h/0.5h) perturberait la régulation, alors que sa persistance dans le milieu de culture ne perturberait pas l'induction de l'existence de l'antibactérien. Ce qui permet à la bactérie d'analyser le type de l'antibactérien et envoyer des signaux intercellulaires. Alors que, le temps de contact d'une heure n'est pas suffisant pour l'induction et la traduction des différentes molécules qui participent à la résistance bactérienne. Donc, après un certains temps de contact il y'a une combinaison antibiotique bactérie et l'élimination brusque de l'antibiotique induirait les cellules à arrêter la production de ces molécules et de recevoir un nouveau signal qui'ndique que le milieu est favorable.

Selon **Bozkurt-Gu'zel et Gerc, eker (2012)**, l'amikacine supprime la mutation du codon stop prématurée plus efficacement que la gentamicine, lorsqu'elle est administrée à des doses cliniquement pertinentes. Ce qui pose les questions :

- Est ce que l'amikacine agit sur la vitesse de traduction des protéines cellulaires ?
- La perturbation de la traduction joue le rôle d'inducteur pour ne pas contrôler les dommages chromosomique, ne pas contrôler les anomalies cellulaires, ou ne pas permet aux cellules de réparer les dommages chromosomique ?

Après une exposition de chaque souche pendant une demi-heure à la concentration CMB, les figures 25.A, 26.A, 27.A, 28.A, 29.A, nous ont permis de remarquer que seulement les taux cellulaires de la souche S16513 diminuent au cours du temps de contact et aussi après élimination de l'antibiotique contrairement des autres souches qui marquent des augmentations. La souche S214 montre la progression la plus importante et la régression diffère d'une souche à l'autre. Cependant tous les taux arrivent à 0UFC/ml durant des temps variables après élimination de l'antibiotique, et qui sont 2h, 2h30min, 3h, 4h30min, 6h pour S16513, S914, S1114, S214, S1014 successivement

La figure 28.A, nous a permis aussi de remarquer une augmentation du nombre des cellules viables de la souche S914 après 2h30min ; après une chute à 0UFC/ml. Ce qui est le même intervalle de temps correspond à l'apparition de ce taux après élimination de l'antibiotique. En outre, après une heure on remarque une autre régression des cellules de cette souche à 0UFC/ml.

## ***Discussion***

---

Les taux cellulaires de la souche S914 (Figure 28) montrent une diminution de 1log pendant le temps de contact avec l'antibiotique et une augmentation de 0,5log dans 1h après son élimination. Puis les taux restent constants pendant 1h. Dans l'heure qui suit, ils diminuent rapidement et arrivent à 0UFC/ml pendant 1h ; donc 3h après élimination de l'antibiotique. En suite, aucune augmentation n'est observée pendant le temps de suivi ; 7h30min après élimination de l'antibiotique.

Donc, l'amikacine a montré un effet post antibiotique après un contact d'une heure à la concentration CMB avec une régression des taux de cellules vivantes à 0UFC/ml

La comparaison des deux figures (Figure 28.A et Figure 28.B), a permis de noter un décalage de 30min pour avoir 0UFC/ml. En plus les cellules exposées à la concentration CMI présentent une augmentation de 1log 5heure après élimination de l'antibiotique. Mais, elles présentent une deuxième diminution à 0UFC/ml une heure après ; ce qui correspond à 6h après élimination de l'antibiotique.

La comparaison des deux figures (Figure 28.A et Figure 28.B), nous ont permis de remarquer que les taux cellulaires de la souche S1014 arrivent à 0UFC/ml dans 6h après élimination de l'antibiotique, pour des cellules exposées à la même concentration pendant une demi-heure. Alors qu'après prolongation de temps de contact une autre demi-heure (1heure), les taux cellulaires ne présentent qu'une faible diminution inférieure à 0,4log après 6h de l'élimination de l'antibiotique.

La figure 27.B, montre qu'après un temps de contact de 1h, les taux des cellules de la souche S1114, exposées à la concentration CMB régressent à 0UFC/ml. Cependant, après 1h de l'élimination de l'antibiotique, on remarque une augmentation très importante avec un temps de génération de 15min. On remarque aussi que pendant 45min, le taux de ces cellules arrive à un taux proche de nombre initial ( $N_0$  : avant le contact avec l'antibiotique); ce qui correspond à 1h45min après élimination de l'antibiotique. En suite les taux restent constants.

La comparaison de l'évolution des taux des cellules exposées à la CMB (Figure 27.A, Figure 27.B), pendant une demi-heure avec celui pendant une heure, nous a permis de constater l'existence d'un effet post antibiotique qui dépasse 8heures pour les deux temps de contact. Cependant, la différence entre les taux cellulaires observés après 8h est très importante (0 et  $N_0$ ).

L'évolution des taux cellulaires de la souche S214 (figure 29), est comparable à une évolution

## ***Discussion***

---

d'une courbe de croissance cellulaire. Pendant le temps de contact (1h) les cellules augmentent du nombre (comparable à une phase exponentielle), après élimination les taux restent constants pendant 1h (phase stationnaire), puis ils diminuent (comparable à une phase de déclin) avec variation de vitesse chaque heure. 3heures après élimination de l'antibiotique le taux cellulaire de cette souche arrive à 0UFC/ml. Donc, après élimination de l'antibiotique, l'activité de celui-ci a été poursuivie et permet une inhibition de la totalité des cellules.

La figure 26.C montre que les taux des cellules de la souche S1014 diminuent de 2,5log pendant le temps de contact de deux heures à la concentration CMB. Cependant, après élimination de l'antibiotique, on remarque une augmentation de 0,8log pendant une demi-heure, puis une diminution de 0,6log pendant 1h30min suivie par une autre augmentation de 0,8log pendant 1h, deux autres diminutions sont observées, une de 0,6log est observée pendant 1h et l'autre de 2,4log pendant 1h aussi, ce qui a permis d'avoir un taux de 0UFC/ml à la septième heure ; donc 5h après élimination de l'antibiotique. Ce qui pourrait montrer la persistance de l'inhibition même chez les cellules nouvellement synthétisées.

Pendant le temps de contact de deux heures avec la concentration CMB, les taux cellulaires des souches S16513 et S1114 arrivent à 0UFC/ml (figure 25.C, figure 27.C), mais après élimination de l'amikacine ceux de la première souche (S16513) restent constants, alors que ceux de la deuxième montrent, un taux constant 1h30min et une augmentation très accélérée avec un temps de génération de 30min ce qui fait une progression de 4,2log pendant 1h. Ensuite, les cellules ralentissent la vitesse d'augmentation des taux ; elles augmentent de 1 log seulement pendant 1h. La vitesse d'augmentation est presque nulle 2.5h après élimination de l'antibiotique.

Les taux des cellules vivantes de la souche S914 (Figure 28) montrent une diminution pendant 4h30min (2heures d'exposition à l'antibiotique et 2.5h après son élimination). Après 30min de l'élimination de l'antibiotique, on remarque une diminution de la vitesse d'inhibition des cellules pendant 2heures. Une troisième phase d'accélération de l'inhibition est observée et a diminué les taux cellulaires de 3log. Ce qui permet d'avoir 0UFC/ml dans une heure.

De ce fait, est-ce que l'amikacine peut agir aussi sur la vitesse de répllication de l'ADN ?

L'exposition des cellules de la souche S1014 pendant une demi-heure à la concentration 10CMI, a permis d'observer une légère augmentation pendant le temps de contact et une diminution très accélérée après élimination de l'antibiotique (figure 26). Le taux de ces cellules arrive à 0UFC/ml après 1h de l'élimination de l'antibiotique. La particularité de cette

## ***Discussion***

---

souche est que le rapport CMB/CMI= 1, ce qui montre que l'amikacine est bactéricide pour elle.

Les taux cellulaires des autres souches, aussi, arrivent à 0UFC/ml, mais pendent des temps plus longs. On remarque aussi que c'est la souche S16513 qui est en deuxième position ; le taux de 0UFC/ml est observé avec un décalage d'une heure ; donc 2h après élimination de l'antibiotique (figure 25.A) alors que le rapport CMB/CMI=16 ; il est le rapport le plus élevé par rapport aux rapports des autres souches testées. Ce qui fait que 10CMI est inférieure à la CMB. Les souches S914 et S1114 (Figure 28.A, Figure 27.A) sont en troisième position. Les taux cellulaires de ces souches arrivent à 0UFC/ml après 4h de l'élimination de l'antibiotique. Une heure après, les taux cellulaires de la souche S914 présentent une augmentation de 1log. Mais ils retournent à 0UFC/ml après 1h (6h après élimination de l'antibiotique). En dernière position sont les cellules de la souche S214 (Figure 29.A); ils arrivent à 0UFC/ml après 4h30min de l'élimination de l'antibiotique. Ces données sont plus moins contradictoires et ne permettent pas de mettre en évidence des corrélations particulières claires.

Les taux des cellules exposées 1h à l'antibiotique arrivent aussi à 0UFC/ml. Cependant la comparaison des courbes de ces dernières avec les courbes de demi-heure de contact a permis de constater que la prolongation des temps de contact de ces souches à la concentration 10CMI, a une influence différente ; on remarque une autre variation des taux cellulaires au cours de temps.

De même, 6.5h après élimination de l'antibiotique, les taux cellulaires de la souche S1014 exposée 1h à l'antibiotique (Figure 26) arrive à 0UFC/ml. Mais, au cours de ce passage ils présentent trois variations : constants jusqu'au 2h30min (1h de contact avec l'antibiotique+1h30min après élimination de l'antibiotique), augmentation de 1,2log pendant 1h, ensuite une diminution de 1log pendant l'heure qui suit. Les taux cellulaires continuent à diminuer, mais avec une vitesse plus faible. En fin ils passent de 3log à 0UFC/ml pendant 1h. Alors que l'exposition pendant une demi-heure à cette concentration (10CMI), a permis d'observer un taux de 0UFC/ml après 1h seulement de l'élimination de l'antibiotique.

Les souches S1114 et S16513 montrent une augmentation des taux cellulaires après une chute à 0UFC/ml. On remarque aussi que le taux cellulaire de la souche S16513 est presque nul 2h après élimination de l'antibiotique comme les cellules exposées une demi-heure à la même concentration (Figure 27, Figure 25). En revanche les taux des cellules exposées une heure montrent une augmentation accélérée à 2log pendant une demi-heure. Les taux cellulaires de

## ***Discussion***

---

la souche S1114 (Figure 27.B) arrivent à 0UFC/ml pendant l'heure de contact avec l'antibiotique, mais après deux heures seulement on observe une augmentation. Cette dernière a permis une évolution de 4log pendant 1h, ce qui correspond au  $N_0$  (même nombre initial ; avant exposition à l'antibiotique). Puis, on assiste à un taux constant. Alors que pour les cellules exposées seulement une demi-heure, aucune augmentation n'est observée après que le taux arrive à 0UFC/ml, malgré qu'il est observé 4h après l'élimination de l'antibiotique.

Les taux cellulaires de la souche S914 (Figure 28.B) arrivent à 0UFC/ml après 3 h de l'élimination de l'antibiotique et aucune augmentation n'est observée. Ce qui fait une différence de 1h par rapport aux cellules exposées une demi-heure (4h) à cette concentration. La diminution des taux cellulaires est initiée pendant le contact avec l'antibiotique mais après son élimination, une légère augmentation de 0,6log est observée pendant 1h suivie par une chute de 3,6log pendant 1h aussi.

Les taux des cellules de la souche S214 (Figure 29.B), montrent une augmentation de 1log pendant le temps de contacte (1h), mais après élimination de l'antibiotique, une régression très rapide est observée. Le taux de ces cellules arrive à 0UFC/ml dans 1h. Aucune augmentation n'est observée pendant le temps de suivi ; 7h après élimination de l'antibiotique. Alors après une demi-heure de contact le taux des cellules de cette souche (S214) arrive à 0UFC/ml après 4.5h.

Donc, après un contact d'une heure, l'amikacine a pu montrer un effet post antibiotique pour les souches testées. Cet effet dépasse les 7h mais avec des taux variables d'une souche à l'autre. Les taux les plus élevés, observés, n'ont pas dépassé le nombre initial avant la mise en contact avec l'antibiotique. Ce taux est observé avec une souche résistante à l'amikacine. L'autre souche qui a montré une augmentation des taux après 5h de l'élimination de l'antibiotique est caractérisée comme sensible par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, mais la recherche des CMI l'a classée dans la catégorie R et avec une CMB, supérieure à CMI de 16 fois ( $CMB/CMI=16$ ), l'amikacine n'exerce qu'un effet bactériostatique sur elle. Les augmentations observées ne sont pas comparables aux témoins, ce qui correspond à un effet post antibiotique pendant ce temps.

Après un temps de contact de 2h, seulement les taux de deux souches S16513, S1014 arrivent à 0UFC/ml (Figure 25.C, Figure 26.C). Cependant, après élimination de l'amikacine, elles montrent une augmentation des taux cellulaires. En outre, la vitesse d'augmentation est très rapide ; avec apparition d'un taux de 2log pendant une demi-heure pour la souche S1014. Puis

## ***Discussion***

---

une régression des taux cellulaire de cette souche est observée. Le taux des cellules vivantes arrive une autre fois à 0UFC/ml après une heure ; donc 1h30min de l'élimination de l'antibiotique. Le même taux (2log) est observé après 1h45 min pour la souche S16513 ; donc avec une différence de 1h15min. Le taux le plus élevé observé pour cette souche est de 2,4log. Il est observé après deux heures de l'élimination de l'antibiotique. Ce taux fait une différence de 1,3log avec le nombre initial. Ensuite les taux cellulaire de cette commencent à diminué ; Ils arrivent à 0UFC/ml après 3h ; donc 5h de l'élimination de l'antibiotique.

Pendant le temps de contact, les taux cellulaires des souches S214 et S914 montrent des diminutions de 0,6log est 0,8log successivement. Après élimination de l'antibiotique, on remarque une diminution de la vitesse de régression. Les taux cellulaires de la souche S914 poursuivent la régression pendant 30min, après élimination de l'antibiotique, puis ils restent constants pendant 1h. Ensuite ils passent de 3log à 0UFC/ml dans 1h ; donc 2h30min après élimination de l'antibiotique. Alors que les taux cellulaires de la souche S214 poursuivent la régression, passent de 3,2log à 0UFC/ml pendant 1h. Donc le taux de 0UFC/ml est observé après 2h de l'élimination de l'antibiotique.

Les taux cellulaires de la souche S1114, présentent aussi une diminution pendant le temps de contact et 1h après élimination de l'antibiotique. Ensuite, ils présentent une augmentation de 2 log pendant 2h. Puis on observe une autre diminution de 1log pendant 1h suivie d'une augmentation de 1,3log pendant 1h aussi. Puis on remarque que les taux restent constants pendant l'heure qui suit.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que la souche S16513 est sensible à l'amikacine, alors que les résultats de la recherche des concentrations inhibitrices indiquent que la concentration minimale inhibitrice l'inclue dans la catégorie résistante. En plus le rapport CMB/CMI=16 ce qui montre une activité bactériostatique et pas bactéricide de cet antibiotique vis-à-vis cette souche.

La comparaison des trois schémas de la figure 25 de la souche S16513 , nous a permis de constater d'une part qu'il existe des concentrations critiques qui peuvent permettre d'avoir un effet post antibiotique *in vitro*. Ces concentrations ne sont pas obligatoirement celles les plus élevées. D'autre part plus on augmente le temps d'exposition plus la vitesse de régression est importante et que des fois la concentration la plus élevée est une concentration bactériostatique et pas bactéricide.

De ce fait, il se pourrait que ce n'est pas la demie vie courte chez certains malades qui est la

## ***Discussion***

---

cause quelques échecs thérapeutiques, mais il se pourrait qu'il y'a une cause liée au comportement de la souche bactérienne. En parallèle ces résultats conduisent à poser de nombreuses questions.

Est-ce que, au cours du temps d'adaptation les signaux cellulaires incitent les cellules à utiliser d'autres cellules plus faibles, ce qui explique la diminution des taux dans les deux premières heures ? ou bien, à des concentrations critiques les cellules ne peuvent plus contrôler la diffusion des antibiotiques ?

Est ce que les cellules de la même souche ne présentent pas la même réponse après l'exposition à un antibiotique ? Donc, est-il possible que la stratégie de résistance bactérienne est autre que les mécanismes déjà mis en évidence ?

Est-ce que pendant le temps d'adaptation, certaines cellules perdent la faculté de former des colonies ?

Mais il est très probable que pendant l'exposition à l'antibiotique, les souches qui montrent une résistance, augmentant le temps de génération. Donc pourquoi on ne concentre pas les recherches sur les adjuvants qui activent la croissance (multiplication) bactérienne ?

Est-ce que les cellules mis en contact avec un antibiotique diminuent les échanges avec le milieu extérieur et/ou elles augmentent le temps de génération à cause de métabolisme différent (dégradation de antibiotique, refoulement à l'extérieur) ?

L'amikacine, en général, a montré un effet post antibiotique après un contact d'une demi-heure à la concentration CMI pour la totalité des souches testées. Cet effet a permis de minimiser les taux jusqu'aux 0UFC/ml pour deux souches différentes avec deux types d'effets d'inhibition différents ; bactéricide ou bactériostatique. Les autres souches ont montré une phase prolongée comparable à une phase de croissance bactérienne de latence/stationnaire. En présence de l'antibactérien, cette phase pourrait être soit, une phase de vie très lente pendant laquelle les cellules minimisent les échange avec un milieu considéré, par la bactérie, comme un milieu défavorable, soit c'est le temps nécessaire pour corriger les dommages cellulaires, soit le temps d'induction pour la production des enzymes responsables de la résistance.

Les expériences ont montré que les durées de PAE de l'amikacine étaient significativement augmentées d'une manière dépendante de la concentration ; Les études pharmaceutiques montrent que lorsque la concentration a été augmentée à 20CMI, l'augmentation de la durée des PAE était presque 2,5 fois plus longue que lorsque l'agent a été appliqué à des

## ***Discussion***

---

concentrations égales à 1CMI.

Les aminosides se lient, avec une forte affinité, au site A sur l'ARNr 16S du ribosome 30S (Fourmy *et al.*, 1996) et peuvent provoquer des erreurs de décodage de l'ARNm, bloquer l'ARNm et l'ARNt translocation et inhibent le recyclage des ribosomes (Borovinskaya *et al.*, 2007). Krause *et al.* (2016) ont testé l'amikacine, imipénème, méropénème, polymyxine B, ceftazidime, céfépime et l'aztréonam, ont trouvé que l'amikacine n'est pas un inducteur de la réponse SOS mais est en fait un inhibiteur puissant de l'induction recA. L'étude de Valencia *et al.* (2017) montre que le traitement par cet antibiotique seul n'a pas augmenté la fréquence mutante.

Donc la compréhension du mécanisme moléculaire de l'impact des différentes concentrations peut aider au maintien de l'activité de l'antibiotique à des concentrations non toxiques et d'utiliser toujours l'arsenal des antibactériens disponibles.

Les résultats de notre étude montrent aussi l'existence d'un effet post antibiotiques de l'imipénème vis-à-vis les souches testées. La comparaison des courbes de la figure 30 (S16513), nous a permis de constater que, pour une demi-heure et deux heures d'exposition, l'effet post antibiotique de l'imipénème est plus long pour les cellules exposées à la concentration CMI (qui est égale à la concentration de CMB) que celui pour les cellules exposées à la concentration 10CMI. En revanche, les cellules exposées à la concentration CMI pendant une heure présentent une augmentation exponentielle pendant et après élimination de l'antibiotique. Celles exposées à la concentration 10CMI ont présenté un retard de croissance, l'augmentation de llog est observé 2h30min après élimination de l'antibiotique. On a constaté aussi que la diminution des taux cellulaires est plus importante avec l'augmentation de la concentration et la prolongation de temps de contact aux concentrations testées.

Malgré que la souche (S16513) est résistante à l'imipénème, le rapport CMB/CMI=1, ce qui confère un effet bactéricide. En parallèle, les résultats montrent l'existence d'un effet post antibiotique. Cet effet est plus long pour les cellules exposées à la concentration CMI=CMB que pour celles exposées à une concentration supérieure de 10 fois.

L'existence d'une combinaison antibiotique bactérie, avec effet bactéricide de contact et effet post antibiotique variable, conduit à poser la question : est ce que les concentrations très élevées sont des concentrations toxiques ou concentration inductibles de l'existence d'un antibiotique ?

## ***Discussion***

---

En outre, les résultats de la recherche de l'EPA montrent que les cellules qui poursuivent la croissance pendant le temps de contact avec l'antibiotique, ont donné un effet plus important que celui observé pour les cellules qui cessent à croître en présence de l'antibiotique.

Nos résultats montrent aussi que l'imipénème peut présenter un effet post antibiotique même après une courte exposition à des concentrations inhibitrices.

**Wolff et al.**, 2009 montrent que les carbapénèmes sont des antibiotiques à effet mixt, principalement temps-dépendant mais présentant certaines caractéristiques des médicaments « concentration-dépendant ».

De même, selon **Karlowsky et al.**, (1996), la durée de l'EPA *in-vitro* est proportionnelle à deux paramètres : la concentration de l'antibiotique pendant la période de contact et la durée de ce contact.

En général, la durée de cet effet est variable selon les souches. Elle peut aller au delà de 8h. ce qui concorde avec les résultats de **Dalhoff et al.**, (2006) qu'il sont constaté qu'il existe un effet post-antibiotique prolongé» une absence de recroissance bactérienne» malgré des concentrations plasmatiques inférieures à la CMI. Cet effet post-antibiotique est d'environ 8 à 10 heures *in vivo* sur *P. aeruginosa* (**Dalhoff et al.**, 2006).

Donc, après élimination de l'antibiotique, l'effet de l'antibiotique est poursuivi pour les concentrations testées. Soit par une diminution des taux cellulaires soit par un arrêt de multiplication cellulaire. L'accélération de multiplication pourrait être une conséquence de contact avec l'antibiotique ou il se pourrait que les cellules mises en contact avec l'antibiotique perdent la faculté de former les colonies sur le milieu de culture solide après 24h d'incubation.

Ce qui pourrait expliquer que dans la première heure l'antibiotique rejoint ses sites de fixation sur les cellules, ce qui permet une pénétration de certaines molécules seulement et induit les mécanismes de résistance de la bactérie. Donc les cellules entrent en vie très lente au lieu de subir des divisions cellulaires ; elles synthétisent les enzymes d'adaptation. Donc, on pense que la chute subite de la concentration transmet d'autres signaux aux cellules, ce qui permet de pousser les cellules à rejoindre un rythme différent.

Bien que la relation entre la déficience en OprD et la résistance à l'imipénème a été bien établie dans la littérature (**Lister et al.**, 2009) ; où la perte des porines telles que OprD représente une barrière pour l'entrée de drogue dans la cellule(**Saier et al.**, 1998 ; **Van**

**Bambeke et al., 2000**), il ne devrait pas être surpris que *P. aeruginosa* ne soit pas suivie toujours les règles attendues à cause de la polyvalence génétique de cette pathogène et sa capacité à co-réguler une résistance multiple. Ces mécanismes font de *P. aeruginosa* une cible en constante évolution et l'un de plus grands défis thérapeutiques (**Lister et al., 2009**). Une réduction de l'accumulation de médicaments peut également être atteinte grâce à une exportation associée à l'activité des pompes (**Saier et al., 1998 ; Van Bambeke et al., 2000**).

En outre, un seul mécanisme ne tient pas compte pour l'hypersensibilité à tous les antibiotiques affectés, et il reste le mécanisme (s) responsable de l'hypersensibilité non caractérisé à l'imipénème (**Lister et al., 2009**).

**Lister et al. (2009)** ont montré aussi que les mutants hypersensibles à l'imipénème peuvent être choisis parmi les souches parentales de *P. aeruginosa* partiellement et complètement dépressurées pour l'expression de l'ampC, sans aucun changement l'expression de l'activité d'hydrolyse ampC ou AmpC (**Wolter et al., 2005**)

**Wolter et al. (2005)** ont également démontré que l'hypersensibilité à l'imipénème est sans rapport avec le niveau d'OprD. Des mutants hypersensibles n'ont pas montré de changements dans l'expression d'oprD ou protéine OprD dans la membrane externe. De plus, des mutants hypersensibles à l'imipénème ont été sélectionnés d'une souche de *P. aeruginosa* dépourvue de Protéine OprD (**Wolter et al., 2005**).

Les résultats de l'effet post antibiotique de notre étude montrent que même pour les souches résistantes à l'imipénème une fois qu'elles sont exposées aux concentrations critiques (CMI, CMB), cet antibiotique peut montrer un effet post antibiotique.

L'ensemble de ces données avec les résultats de l'effet post antibiotique de notre étude nous amène à poser plusieurs questions :

Ce retard de croissance est dû à une inhibition ou à un temps d'adaptation ?

La première phase de combinaison antibiotique bactérie, est ce que c'est une phase d'adsorption ou fixation covalente ?

Comme les cellules ont été en phase de croissance, est ce l'introduction de l'antibiotique permettent une pénétration non contrôlée de certaines molécules, ce qui nécessite une neutralisation (hydrolyse/répulsion) de l'antibiotique avant de continuer une croissance optimale ?

## ***Discussion***

---

Est-ce les molécules une fois entrent dans la cellule, elles provoquent des perturbations métaboliques ?

Est-ce que les cellules de la même souche ne réagissent pas de la même manière pendant l'exposition à un antibiotique donné?

Est-ce que en présence d'un antibiotique, le chimiotactisme induit un tire profit des cellules les plus jeunes de celles les plus faibles ? Utilisation des lysa cellulaire au lieu de l'utilisation des composants libres dans le milieu contenant un antibiotique ?

Quelles sont les signaux cellulaires qui sont met en œuvre entre les cellules planctoniques en présence d'un antibiotique ?

Pourquoi une concentration même plus faible peut être plus bactéricide avec un effet post antibiotique plus important qu'une concentration plus élevée ?

Est-ce que seulement les concentrations sub-inhibitrices sont les concentrations induisant une émergence des bactéries résistantes ?ou est-ce que les concentrations élevées participent aussi à l'émergence des souches résistantes, si le temps d'exposition n'est pas adéquat, soit long ou court?

Selon **Piddock** (2006), les pompes à efflux peuvent également avoir un rôle physiologique chez *P. aeruginosa* (par exemple, communication de cellule à cellule et pathogénicité), outre leurs effets protecteurs contre les antimicrobiens (**Piddock**, 2006).

Deux caractéristiques supplémentaires sont associées à l'expression de mexABoprM. Premièrement, il a été démontré que l'expression de mexAB-oprM dépendante de la phase de croissance (**Evans et Poole, 1999**).

Comme le cycle de croissance progresse et la densité cellulaire accrue, mexAB-oprM, la transcription également augmenté jusqu'à ce que l'expression maximale s'est produite à la fin phase logarithmique/phase stationnaire précoce. Il a été suggéré que la régulation implique un signal de détection de quorum. Cette dernière est un mécanisme par lequel les cellules bactériennes surveillent la densité par la communication de cellule à cellule, permettant l'expression coordonnée de certains gènes (par exemple, facteurs de virulence) d'une manière dépendant de la densité cellulaire (**Van Delden et Iglewski, 1998**).

La signalisation cellule à cellule est médiée par des autoinducteurs diffusibles, connu sous le nom d'homosérine lactone, qui interagissent avec leurs apparentés avec les récepteurs pour activer l'expression des gènes. Ce qui renforce notre hypothèse pour les valeurs déterminé des

CMI.

Les données de l'étude de **Wolter et al. (2008)** suggèrent que la régulation de mexEF-oprN est encore plus complexe et plus inhabituel chez *P. aeruginosa*. Donc, la caractérisation du (des) mécanisme (s) responsable (s) de l'hypersensibilité à l'imipénème chez les souches de *P. aeruginosa* surexprimants mexCD-oprJ peuvent découvrir les cibles de médicaments potentiels pour améliorer l'activité des carbapénèmes.

C'est vrai qu'il est démontré que les aminosides sont des substrats pour la pompe d'efflux, mais le mécanisme responsable de l'hypersensibilité à ces antibiotiques reste inconnu.

Ces sont des mécanismes de transport membranaire universellement répandus chez des organismes vivants. Ils ont un rôle clé dans la physiologie bactérienne : préserve l'équilibre physico-chimique du milieu intracellulaire en s'opposant à l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques toxiques, ils transportent de substances nutritives et export de substances toxiques.

En pratique, importance de l'effet post-antibiotique est fonction de la concentration de l'antibiotique au contact de la bactérie et de la durée de ce contact, ces deux facteurs semblant « peser » de manière égale sur la valeur finale de l'effet post antibiotique. L'effet post antibiotique est généralement plus prolongé in vivo qu'en vitro (**Petitjean et al., 2000 ; Li et al., 1997**). Ce qui concorde avec les résultats de notre étude.

Ils montrent que pour les souches testées l'amikacine est plus bactéricide que l'imipénème. Par contre la présence d'un effet post antibiotique dépend de la concentration et la durée d'exposition. On a constaté aussi qu'il existe des concentrations critiques qui permettent l'expression d'un effet post antibiotique ; elles peuvent être les CMB ou des concentrations supérieures à la CMB.

C'est vrai qu'il existe un mécanisme spécifique à la cible bien établi dans l'action des antibiotiques car les études de **Kohanski et al. (2007)**, **Allison et al. (2011)**, **Lobritz et al. (2015)** fournissent des preuves supplémentaires qui demandent : est que la respiration cellulaire est en aval des processus affectent la létalité de l'aminoside ?

Cependant, l'étude n'aborde pas comment la respiration cellulaire contribue directement à la mort cellulaire induite par les antibiotiques.

Les études pharmaceutiques montrent en général, que l'EPA est important (plusieurs heures) pour les bactéries Gram (-) dans le cas des antibiotiques affectant directement ou

## ***Discussion***

---

indirectement la synthèse protéique ou la synthèse de l'ADN et ayant une action concentration-dépendante tel que les aminosides (**Barmada, 1993 ; Zhanel et Craig, 1994 ; Fuentes et al., 1996**). Le mécanisme moléculaire est expliqué par la probabilité de la lenteur de l'efflux de ces antibiotiques après leur capture et leur transfert dans le cytoplasme bactérien. Les pénicillines, céphalosporines et monobactames ont un effet post-antibiotique court ou nul vis-à-vis des bactéries Gram (-) (**Craig, 1984**), probablement parce qu'ils agissent sans devoir pénétrer dans le cytoplasme bactérien et peuvent donc être élués rapidement. Par contre, les carbapénèmes montrent un effet post-antibiotique net mais plus faible que celui des aminosides (**Baquero et al., 1986 ; Hikida et al., 1995**).

L'optimisation de l'administration des antibiotiques présentant un effet post antibiotique se fera selon deux axes : d'une part, une augmentation des posologies et d'autre part l'administration en perfusion continue, ou tout du moins en perfusion prolongée (**Wolff et al., 2009**). Néanmoins, la limite à l'augmentation des doses reste évidemment liée à la tolérance (doses maximales).

Donc, la diffusion rapide des souches résistantes aux antibiotiques représente une menace thérapeutique et épidémiologique majeure et nécessite la mise en œuvre de procédures d'hygiène strictes et des études régulières de surveillance de cette résistance.

Les mesures de prévention de la transmission croisée soulignent les enjeux économiques de l'amélioration de l'hygiène hospitalière et de la lutte contre la surinfection acquise à l'hôpital. Il serait intéressant de mettre en œuvre un programme de formation d'hygiénistes au sein des hôpitaux ainsi que des enquêtes de consommation d'antibiotiques en Algérie, à l'hôpital comme en ville, ainsi qu'un programme d'éducation et de formation des professionnels et des usagers.

Les données épidémiologiques montrent bien que si la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques n'augmente pas de façon globale en Algérie, la nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante avec l'émergence de carbapénémases. Ces souches en règle multirésistantes restent encore confinées sous forme de petits foyers en Algérie, mais le risque d'extension est bien présent. Le risque d'importation à partir de pays voisins où ces souches sont plus répandues, comme c'est le cas aujourd'hui dans les pays méditerranéens, doit également être pris en compte. Ceci doit donc appeler à une forte vigilance en dépistant précocement ces mécanismes de résistance et renforcer les mesures d'hygiène autour des cas d'infection ou de portage afin d'éviter leur transmission.

## ***Discussion***

---

Mise à part le développement de mécanismes d'adaptation des bactéries pathogènes en milieu environnant, plusieurs facteurs favorisent l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance, comme l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés, l'automédication ainsi que la prescription d'un traitement antibiotique sans la réalisation d'antibiogramme standard (Sefraoui, 2015).

La lutte contre l'antibiorésistance est aujourd'hui un enjeu de santé publique majeur au plan mondial : l'OMS a adopté en 2015, un Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens et le 21 septembre 2015, à l'Assemblée générale des Nations Unies, les chefs d'État se sont engagés à le décliner afin de s'attaquer aux causes fondamentales de la résistance aux antimicrobiens dans plusieurs domaines, et en particulier la santé humaine, la santé animale et l'agriculture.

La Journée européenne de sensibilisation au bon usage des antibiotiques du 18 novembre 2016, qui s'inscrit dans la semaine mondiale pour un bon usage des antibiotiques (20-24/11/2016), confirme la nécessité de mobiliser l'ensemble des acteurs. Citoyens, patients, professionnels de la santé humaine et animale, décideurs ont tous un rôle à jouer dans le renforcement de la lutte contre la résistance aux antibiotiques (INVS, 2016).

De nombreuses propositions ont été faites, qui visent à la relance de la lutte contre le mésusage des antibiotiques entre autre est de renforcer les actions d'accompagnement. Ce qui nécessite de renforcer les collaborations aussi en Algérie entre les différents établissements savantes et professionnelles afin de participer à lutter contre les dangers des bactéries résistante et promouvoir la protection de l'arsenal des molécules antibactérienne disponibles.

Pour agir, les antibiotiques doivent pénétrer dans la cellule bactérienne. Beaucoup d'entre eux utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur pour entrer. Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée de toxiques en diminuant la perméabilité de sa membrane par : Une altération des porines ; ce mode de résistance n'affecte que les bactéries à Gram négatif ; chez ces bactéries, la membrane externe, constitue une barrière de diffusion très efficace. L'antibiotique ne peut traverser cette barrière qu'en empruntant des structures particulières. Le passage des antibiotiques à travers les porines est d'autant plus facile que les molécules sont de petite taille, neutres et très hydrophiles. L'absence de passage ou l'augmentation du temps de passage protège les bactéries et les rend résistantes par une inhibition du transport actif. La modification de la composition du lipopolysaccharide (LPS), soit dans le polysaccharide, soit dans le corps, peut aussi être à

## ***Discussion***

---

l'origine d'une diminution de la perméabilité.

Ce mécanisme n'est, cependant, pas très performant, car il suffit d'augmenter les doses d'antibiotiques pour faire face à cette baisse de la perméabilité membranaire.

Néanmoins, ce système, lorsqu'il est associé à d'autres systèmes de résistance, peut protéger de façon efficace la bactérie même à des doses importantes d'antibiotiques (**Pagès, 2004**).

Le volume de distribution varie d'une classe d'antibiotique à l'autre (hydrophile/liposoluble) Il varie en fonction du patient où il est souvent augmenté chez les patients de réanimation. Chez ces dernier il y'a une augmentation de la perméabilité capillaire (oedèmes), hypoalbuminémie, sépsis, dénutrition, brûlures (**Garraffo et al., 2005 ; Pea et al., 2005**). Donc, l'alimentation pourrait influencer les réponses des patient aux traitements antibactérien et/ou l'activité de l'antibiotique in vivo ; ce qui concorde aussi avec les données de **Craig et al. (1988)** pour les souches sensibles.

Les aminosides sont des antibiotiques caractérisés par une cinétique de bactéricidie très nettement concentration-dépendante ; la vitesse et la profondeur de leur bactéricidie sont directement proportionnelles à la concentration d'antibiotique mise en contact de la bactérie (**Craig et al., 1988**). Toute augmentation de la concentration est suivie d'une augmentation de la bactéricidie. Dans toute population bactérienne, il existe spontanément des mutants résistants préexistants, pour peu qu'elle soit suffisamment dense, c'est-à-dire supérieure à la fréquence de mutation de l'antibiotique considéré. Pour les aminosides, à priori concentrations-dépendants, de fortes concentrations initiales en contact avec la bactérie, même pendant un laps de temps relativement court, permettent, en principe, couplées à l'effet post antibiotique, de prévenir cette émergence avant l'apport suivant (entre deux intervalles) (**Lacy et al., 1998**). Mais dans l'hypothèse où le laps de temps entre la fin de l'EPA et le nouvel apport correspond à plusieurs temps de génération de la bactérie spontanément mutante, non tuée pendant la première phase, la population bactérienne est susceptible de recroître, limitant ainsi la bactéricidie dans son ensemble (**Lacy et al., 1998**). Ce qui met en évidence l'importance de la *concentration maximale initiale* sur la bactéricidie des mutants, mais aussi l'importance capitale de la durée de l'EPA pour éviter la recroissance (**Drusano, 1991 ; Lacy et al., 1998**).

Dans notre étude, on a remarqué que même si la souche est résistante à l'antibiotique, la CMB présente une concentration critique ; qui peut perturber la croissance microbienne même pour des temps de contact courts avec l'antibiotique. Cependant cette concentration n'est pas

## ***Discussion***

---

obligatoire d'être la concentration la plus élevée. A travers nos résultats, on a remarqué aussi que des fois les concentrations les plus élevées ne permettent d'avoir qu'une phase stationnaire (pas de changement des taux cellulaires après élimination de l'antibiotique).

En outre pour l'amikacine, la prolongation du temps de contact ne montrent pas l'effet bactéricide le plus important.

La résistance adaptative est l'apparition d'une résistance phénotypique des bactéries ayant survécu à ce premier contact (**Karlowsky et al., 1996**). Leur CMI peut augmenter considérablement, et ce pendant un laps de temps, de l'ordre de quelques heures à 24 à 36 heures. Cette augmentation de CMI s'accompagne d'une diminution de la vitesse de bactéricidie, ainsi que d'une diminution de l'EPA.

Certains travaux, tel ceux de (**Beaucaire, 1995**), ont clairement montré l'incidence d'un pic d'amikacine élevé d'emblée, supérieur à 40 mg/l, sur la survie de patients de réanimation. Donc, toute situation qui ne permettrait pas d'atteindre immédiatement de telles valeurs serait une situation à risque. Il a été retrouvé chez les patients ayant un volume de distribution significativement supérieur à la moyenne, ou chez qui la demi-vie d'élimination serait considérablement raccourcie. Ces situations sont potentiellement rencontrées chez les patients âgés, pédiatriques, de réanimation, les brûlés, les patients neutropéniques, qui sont autant de justification au dosage du pic des aminosides. Lorsque seul un antibiogramme de type S, I, R (sensible, intermédiaire, résistant) est disponible, il est judicieux de considérer que la CMI est égale à la concentration critique inférieure de l'antibiotique (concentration la plus élevée autorisant encore à classer la bactérie dans la catégorie « sensible »). Ces valeurs ont été récemment révisées et varient d'une molécule à l'autre.

De ce fait, une interprétation bactérioclinique documentée, éventuellement suivie d'une adaptation posologique impose la mesure des CMI ponctuelles des bactéries isolées dans les situations critiques. Les expériences prouvent que, dans la très grande majorité des cas, il peut paraître raisonnable de privilégier d'emblée une forte dose susceptible d'être plus efficace, quitte à la diminuer le cas échéant (situation rare). Le risque encouru semble mineur en regard du risque de sous dosage pour des posologies trop faibles. Le point crucial reste le contrôle du taux sérique obtenu qui devient le déterminant majeur de l'adaptation posologique.

Plus la durée pendant laquelle les bactéries sont en contact avec l'antibiotique est réduite, plus la probabilité d'un développement de résistance est réduite. Malheureusement, la durée de traitement nécessaire n'a fait l'objet d'études que pour une minorité d'infections. Il existe de

## ***Discussion***

---

premières approches qui montrent de manière surprenante qu'en cas de pneumonie, un traitement sur 3 jours a le même effet qu'un traitement sur 7 à 10 jours.

**Meylan et al.** (2017) rapportent que certains produits chimiques pourraient induire la stimulation du métabolisme central du carbone et la respiration cellulaire dans *P. aeruginosa*. Ce qui potentialise l'activité bactéricide de la tobramycine.

Parce que les cellules à croissance rapide sont facilement tuées par des antibiotiques, alors que les cellules dormantes qui ont arrêté la croissance ne le sont pas ; la tolérance est largement considérée pour être due à croissance lente et synthèse réduite de macromolécules. Ce qui limite la disponibilité des cibles médicamenteuses (**Brauner et al., 2016**). Cependant, la tolérance phénotypique est très complexe, et beaucoup de son mécanisme reste mal compris.

La tolérance n'est pas dépendante du taux de croissance et forme la base d'interventions thérapeutiques potentielles pour re-sensibiliser les cellules tolérantes (**Davis, 1987**).

Ainsi, Il est reconnu, d'une part que la dénutrition peut contribuer à diminuer les défenses immunitaires, modifier le métabolisme des médicaments et allonger la cicatrisation (**INSERM, 1999**) et d'autre part l'espèce *P. aeruginosa* est caractérisée par sa pathogénicité relativement importante à l'égard des sujets immunodéprimés (**Jeannot et Plesiat, 2005; Navon-Venezia et al., 2005**). Ce qui renforce l'hypothèse de promouvoir la possibilité de contourner l'effet des antibiotiques classés comme inefficaces par une surveillance de l'évolution de bactéricidie de l'antibiotique vis-à-vis la souche clinique en utilisant des concentrations efficaces bactéricides et en cherchant l'alimentation adéquate de patient et/ou on utilise des adjuvants qui perturbent la régulation cellulaire de l'agent infectant même dans le cas échéant de non possibilité d'utilisation des doses souhaités.

Les carbapénèmes sont des antibiotiques réservés à des situations cliniques particulières que sont les infections à bacilles Gram négatifs multi-résistants sans autre alternative thérapeutique. Leur usage nécessite une réévaluation de la pertinence de la prescription qui doit être réalisée en fonction des résultats microbiologiques entre la 48ème et la 72ème heure (**Grall et Muller-Serieys, 2013**). Chez *P. aeruginosa*, plusieurs mécanismes sont responsables de la résistance. La perte de la porine OprD est responsable d'une augmentation de la CMI (de l'ordre d'un facteur 8 à 32) de l'imipénème, mais cette perte de porine doit s'accompagner de la production d'une céphalosporinase de type AmpC pour produire une véritable résistance (**Hocquet et al., 2007**). Néanmoins, plusieurs études suggèrent que ces résistances sont réversibles du fait de l'instabilité de la modification des porines (**Martínez-Martínez, 2008**,

**Nordmann et Carrer, 2010**). Cependant, l'émergence et la diffusion de bactéries, qu'elles soient multi-résistantes ou hautement résistantes, sont des phénomènes complexes, évolutifs et inquiétants (**Cosgrove, 2006 ; Marín et al., 2015**).

De plus, il est désormais bien établi que la consommation abusive et répétée d'antibiotiques favorise l'émergence de ces résistances bactériennes à travers la pression de sélection qu'elle exerce aussi bien au niveau des flores commensales (**Murray, et al., 1982; Prevot et al., 1986**) qu'au sein de l'inoculum bactérien responsable d'infections.

Une approche multidisciplinaire, nécessitant une étroite collaboration entre cliniciens, pharmaciens, microbiologistes et hygiénistes, permet d'améliorer plus efficacement la qualité de l'antibiothérapie dans les établissements et de maîtriser les consommations d'antibiotiques et notamment des antibiotiques définis comme « critiques » (**Beaucaire, 2003 ; Pavese, et al., 2005**).

Chez les bactéries à Gram -, la voie des porines est la voie privilégiée de passage des  $\beta$ -lactamines hydrophiles. L'aspect purement quantitatif de la vitesse de diffusion des  $\beta$ -lactamines à travers les porines est essentiel dans la compréhension de leur mode d'action. Dans la mesure où cette diffusion est passive, la concentration dans le périplasme doit pouvoir atteindre celle régnant à l'extérieur de la bactérie, indépendamment de la vitesse de diffusion. Il existe cependant dans le périplasme des mécanismes tendant à faire diminuer la concentration des  $\beta$ -lactamines ( $\beta$ -lactamases, affinité des PLP, diffusion intracytoplasmique). La vitesse de pénétration des  $\beta$ -lactamines est conditionnée par leurs propriétés physico-chimiques. Le facteur clé du comportement d'une  $\beta$ -lactamine dans l'espace périplasmique est le rapport existant entre sa vitesse de pénétration et sa résistance aux  $\beta$ -lactamases périplasmiques, qui sont toujours présentes, ne serait-ce qu'à très bas niveau, même si elles ne sont pas décelables par les techniques traditionnelles. Parmi les  $\beta$ -lactamines de 1<sup>ère</sup> génération (ampicilline, céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération), il existe une relation claire entre leur activité sur les bactéries à Gram - et leur vitesse de diffusion. En effet, leur vitesse de flux d'entrée est telle qu'il y aura toujours assez de molécules pour inhiber la PLP, même si une partie d'entre elles sont hydrolysées par d'éventuelles  $\beta$ -lactamases. Parmi les composés les plus récents, cette relation n'est plus aussi claire. La pipéracilline ou les C3G ont des vitesses de diffusion relativement faibles mais sont très actives, ce qui peut s'expliquer par une bonne stabilité face aux  $\beta$ -lactamases.

Chez les bactéries, « penicillin-binding proteins » (PBP) sont des protéines localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et qui ont une activité de carboxypeptidase,

## ***Discussion***

---

d'endopeptidase, de transpeptidase, ou de glycosyltransférase ; ces enzymes sont impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane. L'inactivation des PLP se fait par formation de complexes covalents avec les  $\beta$ -lactamines (Fixation aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP), par analogie de structure avec le dipeptide DAla-DAla).

Les  $\beta$ -lactamines se fixent au niveau du site actif sérine ; l'acyl-enzyme résultante a une vitesse d'hydrolyse extrêmement faible, ce qui réduit le taux de liaisons intermoléculaires formées au sein du peptidoglycane (Inhibition de la transpeptidation). Cette fixation conduit à un effet bactériostatique. Ce dernier se traduit par trois effets morphologiques différents qui ont été observés selon les fixations préférentielles d'une  $\beta$ -lactamine sur la PLP : formation de filaments (induction du système SOS ?), de sphéroplastes suivie d'une lyse bactérienne, ou formes globulaires. Ainsi, l'inhibition de la PLP2 entraîne l'apparition de formes rondes, et l'inhibition de la PLP3 aboutit à la formation de filaments. L'inhibition en soi des PLP entraîne un arrêt de croissance, ce qui correspond à un effet bactériostatique.

Dans notre étude la souche S914 qui est qualifiée comme une souche de phénotype **Imperméabilité sélective OprD2** selon **Fauchere (1997)**, on a pu estimer une valeur de CMI de l'imipénème de 64mg/l, mais on n'a pas pu déterminer la CMB ; puisque à partir de 1024mg/l le milieu est devenu trouble à cause de la concentration élevée de l'antibiotique.

Alors que l'effet bactéricide des  $\beta$ -lactamines repose sur la mise en jeu des enzymes des systèmes lytiques. Ces lysines regroupent des glycosidases (rompant les chaînes glycaniques), des amidases (coupant les liaisons amides) et des peptidases (Lyse bactérienne). A l'heure actuelle, le mécanisme précis qui, suite à l'inhibition des PLP, déclenche une activité accrue de ces enzymes reste inconnu (**Jehl et al., 2004**).

Les aminosides se lient aux ribosomes et causent une mauvaise interprétation translationnelle, résultant dans les dommages de la membrane qui conduit à la mort cellulaire (**Davis, 1987**).

Ce qui conduit à conclure que la résistance bactérienne est liée directement à la régulation cellulaire par une diminution des échanges avec le milieu extérieur. L'existence toujours des concentrations inhibitrices prouve l'influence de l'antibiotique sur la vie cellulaire des souches testées. En addition, l'existence d'un effet post antibiotique montre que l'antibiotique atteint toujours ces récepteurs cellulaires. En plus, l'élimination de l'antibiotique après un délai qui ne permet pas aux cellules de rester induites de la présence de toxine est suivi par une phase stationnaire/latence qui pourrait être le temps de dégradation de l'antibiotique ou de son refoulement à l'extérieur des cellules. Cependant, cette phase est suivie par une diminution des taux cellulaires ou augmentation après un délai qui dépasse le temps de

## ***Discussion***

---

génération des cellules témoins. En rajoutant que de nombreuses études montrent que les conditions de vie cellulaire et l'alimentation des patients et certains produits chimiques améliorent l'activité de certains antibiotiques testés. Le rassemblement de ces données nous permet de penser que la recherche des adjuvants ou compléments alimentaires associés à la consommation de l'antibiotique qui induit toujours un maintien de la croissance en présence de l'antibiotique pourrait aider à protéger l'arsenal antibiotique disponible.

# CONCLUSION

### Conclusion

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie qui a prouvé un intérêt majeur dans les études épidémiologiques, par sa capacité impressionnante à coloniser les différents biotopes et de développer des résistances aux antibiotiques au cours du temps.

Dans cette étude, et sur 535 prélèvements positifs (présence de *P. aeruginosa*), qui sont collectées à partir des différents services de Bactériologie médicale soit des hôpitaux, des cliniques ou des laboratoires privés, nous avons testé l'antibiorésistance de 390 souches.

L'identification de *P. aeruginosa* a été initiée par une caractérisation macroscopique de l'aspect des colonies puis par les examens microscopiques et enfin biochimiques. La production de la pyocyanine reste le caractère distinctif entre l'espèce recherchée et les autres espèces apparentées. On a pu caractériser la présence de différents aspects macroscopiques pour les différents isolats et des différents profils d'assimilation des substrats.

Pour l'antibiorésistance des souches collectées, les résultats de la recherche des profils de sensibilité par la méthode de diffusion sur le milieu gélosé (antibiogramme) vis-à-vis des aminosides et des bêta-lactamines les plus utilisés en Algérie, montrent que les aminosides sont en général, les antibiotiques les plus efficaces par rapport aux bêta-lactamines.

Les molécules qui s'avèrent efficaces sont: l'amikacine, avec un taux de résistance au voisinage de 00%, puis l'imipénème et la pipéracilline avec un taux de résistance trop faible de 3.3% pour les souches testées entre 2011 et 2013 et inférieur à 20% pour celles de 2016. Donc l'évolution de la résistance n'est pas importante pour ces antibiotiques qui restent toujours actifs et plus efficaces sur *P. aeruginosa*.

Certaines souches montrent des valeurs de CMI qui les catégorisent comme intermédiaires ou même résistantes, alors qu'elles sont classées comme sensibles selon l'antibiogramme par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

L'antiseptogramme a montré que l'eau oxygénée (à 10 volumes) est l'antiseptique le plus efficace sur les souches testées par rapport à l'alcool chirurgical à 70° et l'alcool iodé à 10%. La recherche des concentrations inhibitrices de l'eau chlorée à 13° a montré que certaines d'entre elles peuvent se multiplier en présence des concentrations de 0.25 jusqu'au 1% de ce désinfectant. Alors que d'autres supportent des concentrations supérieures à 2%. Ce qui pourrait expliquer les causes de l'augmentation des infections nosocomiales en particulier post opératoires causées par *P. aeruginosa* et nous incite à prendre en considération les profils

## Conclusion et perspectives

---

de résistance locaux actuels lorsque ces agents antibactériens sont choisis pour la gestion empirique des infections

Cette étude nous a permis de remarquer aussi que des souches sensibles aux antibiotiques sont résistantes à la concentration de 2% de l'eau chlorée. Ces données mettent des inquiétudes sur les souches responsables des infections nosocomiales dans les établissements de santé.

Par ailleurs, les résultats de la recherche de l'effet post antibiotique chez quelques souches résistantes montrent l'existence des retards de croissance après l'élimination de l'antibiotique du milieu de culture qui sont variables selon le type de molécule et selon les souches testées. Cependant, il reste évident que l'exposition des souches à des concentrations bactéricides augmente la probabilité d'efficacité thérapeutique avec un effet post antibiotique variable à des concentrations inhibitrices. Ce dernier se traduit par arrêt de croissance, donc arrêt de multiplication ou équitabilité entre les taux des cellules qui se divisent et ceux des cellules lysées. Après l'élimination de l'antibiotique et pour certaines concentrations, les résultats ont montré des diminutions des taux cellulaires. Ces derniers pourraient être expliqués par une lyse cellulaire sans division. Par conséquent, il se pourrait qu'il est possible de ralentir l'émergence de la résistance en optimisant la thérapie avec les médicaments actuellement disponibles.

## Perspectives

*Pseudomonas aeruginosa* est considéré comme l'exemple-type des bactéries pathogènes opportunistes. Elle a une impressionnante capacité de développer une résistance antibactérienne. En outre, le défi le plus difficile avec ce pathogène est sa capacité à devenir résistant au cours du traitement d'une infection. Par conséquent, le défi face à nous aujourd'hui est de ralentir l'émergence de la résistance.

Les données de nos résultats soulignent que l'antibiogramme dans sa forme actuelle, est d'une utilité modérée. Donc, la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) demeure une demande indispensable avant la prescription de l'antibiotique le plus efficace afin d'éviter les échecs thérapeutiques. Ce qui rend indispensable de renforcer les efforts par l'équipement des laboratoires par des techniques automatisés qui facilitent l'obtention des résultats fiables dans les délais les plus courts possibles.

## Conclusion et perspectives

---

Des progrès sont également nécessaires pour préciser les attentes des cliniciens concernant les objectifs du traitement anti-pseudomonas ; puisque on pense que le défi le plus inquiétant est l'expression des résistances *in-vitro* par une espèce qui est caractérisée par un système assez puissant leur permet d'avoir des résistances réversibles ou inductibles dans des conditions méconnues à l'heure actuelle.

De ce fait, dans le cadre d'une politique de maîtrise des résistances bactérienne aux antibiotiques, la gestion des médicaments ne peut être laissée à coté, mais, il est indispensable d'identifier tous les déterminants et d'assurer le contrôle ; en faisant la part de ce qui revient à tout ce qui révèle de la surveillance par des mesures d'hygiène et d'isolement des souches de cette espèce.

Il faut en outre, prendre en compte ce qui facilite la sélection des bactéries résistantes et promouvoir le bon usage des antibiotiques. Ceci nécessite d'adopter un plan d'action régional, national et même mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens en renforçant les conditions qui améliorent la pratique de la surveillance et de la recherche au niveau national et mondial.

Nos résultats montrent que la lutte contre la résistance bactérienne ne peut plus se limiter uniquement à l'indispensable évolution vertueuse des prescriptions des professionnels de santé. Par ailleurs, il est important de ne pas restreindre les réflexions sur l'antibiorésistance uniquement due aux antibiotiques mais l'utilisation anarchique et immodérée des antiseptiques et des désinfectants.

Compte tenu du pouvoir épidémique élevé de ces souches et des impasses thérapeutiques auxquelles celles-ci peuvent conduire, le dépistage et la détection des gènes de résistance sont des éléments fondamentaux de la maîtrise de leur dissémination. Néanmoins, sur le plan technique cette détection s'avère très difficile, voire impossible dans les pays en voie de développement, entre autre l'Algérie.

Il ne s'agit donc uniquement d'améliorer la qualité des prescriptions d'antibiotiques et le niveau général des connaissances sur l'antibiorésistance, mais aussi de soutenir les actions citoyennes et privées en faveur de la lutte contre la résistance bactérienne.

En parallèle, il est important de considérer les profils de résistance locaux actuels lorsque les agents antibactériens sont choisis pour la gestion empirique des infections et d'agir au niveau mondial, en prenant en compte les réalités des différents pays et la globalité du phénomène,

## Conclusion et perspectives

---

bien au-delà de l'utilisation des antibiotiques.

Le développement global d'une résistance doit être freiné. Cela semble n'être possible que par des actions communes de l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, de la politique et des patients.

Le recours aux antibiotiques en médecine humaine doit être régulé. Il s'agit en premier lieu de conserver l'efficacité des antibiotiques actuels. Seule une utilisation correcte et restrictive des antibiotiques permet de freiner la sélection et la transmission de la résistance. Donc, la mise en place d'une politique de maîtrise de l'utilisation des antibiotiques et la sensibilisation peuvent prévenir la diffusion des bactéries résistantes

C'est vrai que, très peu ou pas de nouveaux médicaments sont introduits sur le marché au cours de ces dernières années et que la résistance aux antibiotiques antipseudomonale a été trouvée élevée. Mais les résultats de l'effet post antibiotique, nous encouragent à retourner les axes de recherche vers l'activation de division cellulaire au cours d'un traitement antibactérien afin de mettre en évidence les probabilités de succès thérapeutique pour des souches considérées comme résistantes avec des concentrations critiques élevées. En plus la préservation de l'écosystème bactérien du tube digestif pourrait préserver l'efficacité thérapeutique.

Ces résultats montrent qu'il est possible d'optimiser la thérapie grâce à la compréhension des principes pharmacodynamiques antibactériens de base et son explication au niveau moléculaire. Bien que la compréhension de la pharmacodynamique antibactérienne peut aider dans la sélection du meilleur antibiotique et / ou dosage stratégie pour optimiser la thérapie, en empêchant l'émergence de la résistance, elle nécessite l'inclusion de sous-populations potentiellement résistantes dans l'équation. Malheureusement, ce n'est pas toujours simple, puisque les changements de sensibilité associés aux mutations peuvent varier largement en fonction de mécanisme de la résistance. Par conséquent, l'optimisation de la pharmacodynamique basée sur la sensibilité de l'isolat clinique original n'aborde pas toujours le risque de résistance émergeant pendant la thérapie. De ce fait, des connaissances sur l'antibiorésistance, par la participation de diverses disciplines sociales, économiques, que biologiques, physiologiques, pharmacologiques, vétérinaires, agronomiques, de nutrition complémentaire doivent être associées à l'antibiothérapie, aide à comprendre l'antibiorésistance dans sa globalité. Ce qui pourrait aider à éclairer la relation entre les activités humaines, antibiotiques, environnement et antibiorésistance, tout en renforçant la

## Conclusion et perspectives

---

responsabilité professionnelle individuelle et collective.

Ceci montre que nous avons encore beaucoup à *apprendre* d'une part sur le potentiel de résistance de *P. aeruginosa* caractérisée par l'interaction complexe de plusieurs mécanismes de résistance, et d'autre part sur les interactions dynamiques des antibiotiques avec cette bactérie pathogène.

L'augmentation de la résistance, voire de la multirésistance, couplée à l'absence de nouvelles molécules, nous oblige à penser à la possibilité d'utiliser ceux dont nous disposons. Il se pourrait que le bon usage des antibiotiques passe de façon incontournable par le dosage des antibiotiques qui a eu la faveur des cliniciens dans un souci de prévention de la toxicité ; il est évident qu'il doit bénéficier d'un engouement encore plus fort en termes d'efficacité bactérioclinique et de prévention de l'émergence de résistance. Les technologies existantes le permettent et il est du rôle du bactériologiste de le promouvoir avec l'aide des cliniciens concernés.

On pense aussi qu'il est nécessaire de lancer des recherches sur la qualité d'alimentation des personnes sous traitement ou la recherche des adjuvants alimentaires couplés et associés à l'antibiothérapie peut aider certaines situations

L'utilisation des études sur la résistance (CMI, CMB) et pharmacodynamiques (cinétiques de bactéricidie et effet post-antibiotique) permet de préciser les conditions d'activité *in-vivo* à réaliser pour l'amélioration des traitements appliqués aux patients à titre individuel que dans une perspective plus large de diminution des risques de résistance et de contrôle des coûts globaux. Le développement de programmes concertés, réunissant cliniciens, microbiologistes et pharmaciens et visant à implémenter les principes pharmacodynamiques, tout en modulant leur application en fonction des situations individuelles, serait donc d'un grand intérêt en pathologie infectieuse.

Enfin, on pense qu'il est indispensable, aujourd'hui, de découvrir une cible, nouvelle, moins susceptible d'induire une réponse adaptative de résistance.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

### Références bibliographiques

- **Abdallah M.A., Hennard C. et al** (1991). Transport du fer et rôle des pyoverdines dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*. Incidences thérapeutiques. 600-605p.
- **Acumedia Manufacturers, Inc. 2009.** CETRIMIDE AGAR (AGAR MEDIUM N) (7688). PI 7688. Rev 02. February 2009.
- **AER (Annual Epidemiological Reports).** (2014). European Centre for Disease Prevention and Control. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report.pdf>. Last accessed August 13. 2106.
- **Aeschlimann J.R. Rybak M.J.** (1998). Pharmacodynamic analysis of the activity of quinupristin-dalfopristin against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with differing MBCs via time-kill-curve and postantibiotic effect methods. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**: 2188-2192p.
- **Afssaps (agence Française de sécurité sanitaire des produits de Santé).** (2011). Mise Au Point Sur Le Bon Usage Des Aminocyclosides Administrés Par Voie Injectable :Gentamicine, Tobramycine, Nétilmicine, Amikacine. Propriétés pharmacologiques, indications, posologies et modes d'administration, surveillance du traitement.
- **Ahsan H., Ali A., Ali R.** (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology*, **131**: 398-404p.
- **Aiken. Wetzstein.** (2002). Once-daily aminoglycosides in patients with neutropenic fever. *Oncology Pharmacother. Pathologie Biologie.* 31- 426p.
- **Al Bayssari C.** (2015). Etude des mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques dans le bassin méditerranéen. Date : 9 octobre 2015. Disponible sur [http://www.theses.fr/2015\\_AIXM5028](http://www.theses.fr/2015_AIXM5028).
- **Allison K.R., Brynildsen M.P., Collins J.J.** (2011). *Nature* **473** : 216–220p.
- **Allouch P. Antoniotti G. Bajolet O. Cavallo Jean-Didier et al.** (2000). ONERBA : Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie. Editon *Edimark*. 72p.
- **Aloush V. Navon-Venezia S. Seigman-Igra Y. et al.** (2006). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 43-50p.

- **Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., Fabry J., les membres du réseau NosoMed.**(2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *Eastern Mediterranean Health Journal. La Revue de Santé de la Méditerranée orientale. EMHJ.* **16 (10)**.
- **Aminov RI.** (2009). The role of antibiotics and antibiotic resistance innature. *Environ Microbiol* **11**: 2970–2988p. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01972.x>.
- **Amsler K.M. Davies T.A. Shang W. Jacobs M.R. Bush K.** (2008). *In vitro* activity of ceftobiprole against pathogens from two phase 3 clinical trials of complicated skin and skin structure infections. *Antimicrob Agents Chemother.* **52**: 3418-3423p.
- **Andremont A.** (1996). Définition de la multirésistance bactérienne, prévalence et incidence des bactéries multirésistantes en réanimation. Impact écologique. In: XV Conférence de consensus en réanimation médicale et en médecine d'urgence. Prévention des infections à bactéries multirésistantes en réanimation.
- **Andreu M. Mainardi J.L.** (2003) Que doit-on connaître de la microbiologie pour prescrire un antibiotique ? *Rev Prat.* **53**: 1545-1553p.
- **Archambaud M.** (2009). Méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques *in vitro*. Laboratoire bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse. 12-14p.
- **Ashdown L.R.** (1997). Identification of *Pseudomonas aeruginosa* in the clinical laboratory. *J Clin Pathol.* **32**: 500-504p.
- **ATB-Raisin.** (2017). Études et enquêtes : Surveillance de la consommation des antibiotiques. *Surveillance de la consommation des antibiotiques. Réseau ATB-Raisin. Résultats 2015.* Saint-Maurice : Santé publique France. 137 p. Disponible à partir de l'URL : [www.santepubliquefrance.fr](http://www.santepubliquefrance.fr).
- **Azghani A.O.** (1996). *Pseudomonas aeruginosa* and epithelial permeability. role of virulence factors elastase and exotoxin A. 40-132p.
- **Azucena E., Mobashery S.** (2001). Aminoglycoside-modifying enzymes: mechanisms of catalytic processes and inhibition. *Drug Resist Updat. Apr.* **4(2)**:106-17p.
- **Bagge N. Ciofu O. Hentzer M. Campbell J.I. Givskov M. Hoiby N.** (2002). Constitutive high expression of chromosomal beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob Agents Chemother.* **46(11)**: 11-3406p.

- **Baquero F., Culebras E., Perez Diaz J.C., Medrano J.C., Vicente M.F.** (1986). Postantibiotic effect of imipenem on gram-positive and gram-negative microorganisms. *J Antimicrob Chemother.* **18**: 47-59p.
- **Barbier F., Wolff M.** (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* vers l'impasse thérapeutique. *Med Sci (Paris).* **26 (11)**: 960-968p.
- **Barclay M.L., Begg E.J., Chambers S.T.** (1996). Adaptive resistance following single doses of gentamicin in a dynamic *in vitro* model. *Antimicrob Agents Chemother. International Journal of Medical Microbiology.* 65-147p.
- **Barclay M.L.B, egg E.J., Chambers S.T., Thornley P.E., Pattemore P.K., Grimwood K.** (1999). Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* **37(6)**: 64-1155p.
- **Barmada S., Kohlepp S., Dworkin R., Gilbert D.** (1993). Correlation of tobramycin-induced inhibition of protein synthesis with postantibiotic effect in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* **37**: 2678-2683p.
- **Bartoli M., Dusseau J.Y.** (1995). Oxydants. Dans : Antisepsie et Désinfection. *Fleurette J. fresney J. et Reverdy M.E. Editions Eska.* 305-314p.
- **Bassetti M.L., Nicolini S., Esposito E., Righi C., Viscoli.** (2009). Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem.* **16**: 564-575p.
- **Bayani M., Siadati S., Rajabnia R., Taher AA.** (2012). Drug Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* Isolated from ICU. Babol. Northern Iran. *Int. J. Mol. Cell Med.* **2**: 204-209p.
- **Beaucaire G.** (1995). The role of aminoglycosides in modern therapy. *J Chemother.* **7(Suppl. 2)**: 111-23p.
- **Beaucaire G.** (2003) « Améliorer la prescription d'antibiotiques à l'hôpital : comment ? Formation, organisation, évaluation : évaluation et action », *Médecine Mal. Infect.* janv. **33(Sup 1)** : 93-104p.
- **Beaucaire.** (2000). Does once daily dosing prevent nephrotoxicity in all aminoglycosides equally. *Clin Microbiol Infect.* 357-362p.
- **Bédos J.P.** (1999). Evaluation des antibiotiques dans des modèles expérimentaux animaux : apports et limite Réanimation Urgences. 121-122p.
- **Belmiloudi S.** (2012). Evaluation du potentiel de l'UF-1000i® à mesurer l'action antibactérienne des antibiotiques en milieu liquide. Application à des isolats cliniq. Thèse en vue du diplôme d'état de docteur en pharmacie.

- **Ben Romdhane F, Bouguerra C, Sahnoun O, Loussaief C, Kacem B, Mastouri M, Tabka-Stambouli R, Chakroun M, Bouzouaia N.** (2007). Les bactéries multi-résistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Rev Tun Infectiol.* **1(4)**:12-15p.
- **Beraud G.** (2011). Le technicien d'analyses biologique. Guide théorique et pratique. 10-25p.
- **Beraud G.** (2011). Le technicien d'analyses biologique. Guide théorique et pratique. 10-25p
- **Berche P., Gaillard JL., Simonet M.** (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. *1ère édition. Médecine-sciences Flammarion.* 660p.
- **Berdyev D. R. Scapin · C. Labille · L. Lambin · M. Fartoukh.** (2011). Infections communautaires graves : Les pneumonies aiguës communautaires bactériennes de l'adulte. Serious community infections. Acute bacterial community-acquired pneumonia in adults. Enseignement supérieur en soins infirmiers infirmier. Réanimation. *Srlf et Springer-verlag France.* **20**:S566-S575. DOI 10.1007/s13546-010-0031-3.
- **Berka R.M., GRAY G. L., et al.** (1981). Studies of phospholipase C (heat-labile-hemolysin) in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.* 1071-1074p.
- **Bernet C., Laprugne-Garcia E., Laval S. G.** (2009). Le risque de contamination à *Pseudomonas aeruginosa* à l'ouverture d'un établissement de santé. 8p.
- **Bertrand X., Slekovec C., Cholley P., Talon D.** (2011). Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa* Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Revue Francophone des Laboratoires. **435** : 35-40p. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71100-5](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71100-5).
- **Bevilacqua S.** (2011). Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. (Essai d'intervention contrôlé). Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré. sciences de la vie et de la santé. Sous la direction de école doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement. EA 4360, Unité de recherche : Maladies chroniques, santé perçue et processus d'adaptation. Approches épidémiologiques et psychologiques). 140p.
- **Biomérieux.** (2011). [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com).

- **Blanc D. S., Petignat C., Janin B., Bille J., Fancioli P.** (1998). Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clin. Microbiol. Infect.* **4**:242–247p.
- **Boffi El Amari E., Chamot E., Auckenthaler R., Peche` re J. C., Van Delden C.** (2001). Influence of Previous Exposure to Antibiotic Therapy on the Susceptibility Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremic Isolates. *Clinical Infectious Diseases* . by the *Infectious Diseases Society of America*. **33**:1859–64. Doi.1058-4838/2001/3311-0009\$03.00.
- **Bogdanovich T.C., Clark L., Ednie G., Lin K., Smith S., Shapiro P., Appelbaum C.** (2006). Activities of ceftobiprole, a novel broad-spectrum cephalosporin, against *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**: 2050-2057p.
- **Bonten M.J., Bergmans D.C., Speijer H., Stobberingh E.E.** (1999). Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. *Am. J. Crit. Care Med.* **160**:1212–1219p.
- **Borovinskaya M.A., Pai R.D., Zhang W., Schuwirth B.S., Holton J.M., Hirokawa G., Kaji H., Kaji A., Cate J.H.D.** (2007). Structural basis for aminoglycoside inhibition of bacterial ribosome recycling. *Nat Struct Mol Biol.* **14**: 727–732p. <https://doi.org/10.1038/nsmb1271>.
- **Bozkurt-Gu`zel C., Gerc`eker A.A.** (2012). Post-antibiotic effect of colistin, alone and in combination with amikacin, on *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *The Journal of Antibiotics.***65**:83–86. Doi:10.1038/ja.2011.101.
- **Brauner A., Fridman O., Gefen O., Balaban N.Q.** (2016). *Nat. Rev. Microbiol.* **14**, 320–330. Davis, B.D. (1987). *Microbiol. Rev.* **51**: 341–350p.
- **Briand Y.M.** (1992) .Infections à bacille pyocyanique. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Edition : *Techniques. Paris.* 1-14p.
- **Briand Y.M., Grandguillot M.** (1991). Facteurs de pathogénicité de *Pseudomonas*.
- **Brossard H., Leyral G. & Tery O.** (1997). Bactériologie systématique. Activités techniques en microbiologie. *Collection biologie technique.* Ed. Aquitaine. **2**:71-141p.
- **Brown S. D., Traczewski M. M.** (2005). Comparative *in vitro* antimicrobial activity of a new carbapenem, doripenem: tentative disc diffusion criteria and quality control. *J. Antimicrob. Chemother.* **55**: 944–949p.

- **Brun-Buisson C. 2016.** Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Novembre 2016. Santé publique France, Direction de la communication / Unité de valorisation scientifique ISBN : 979-10-289-0299-5 / ISBN-Net : 979-10-289-0300-8.
- **Bryskier A. (1997).** Historique, classifications et perspectives de développement des antibiotiques et des agents antibactériens. *Médecine Thérapeutique*, **3**(hors série): 7-18p.
- **Buijk., Mouton., Verbrugh., Bruining., (2002).** Experience with a once-daily dosing program of aminoglycosides in critical ill patients. *Intensive Care Med. Journal of Ethnopharmacology*. 33-12p.
- **Bulitta JB., Ly NS., Landersdorfer CB., Wanigaratne NA., Velkov T., Yadav R., al. (2015).** Two mechanisms of killing of *Pseudomonas aeruginosa* by tobramycin assessed at multiple inocula via mechanism-based modeling. *Antimicrob Agents Chemother.* **59**: 2315-2327p. doi: 10.1128/AAC.04099-14 PMID:25645838.
- **Bustamante C., Drusano G.L., Tatem B.A., Standiford H.C. (1984).** Postantibiotic effect of imipenem against *pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 678-682p.
- **Campbell J. I.A., Cioufu O., Hoiby N. (1997).** *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis have different beta-lactamase expression phenotypes but are homogenous in the *ampC-ampR* genetic region. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**: 1380–1384p.
- **CAPP-INFO. (2007).** Désinfectants Et Antiseptiques Bulletin D'information Du Capp (Contact Avis Pharmacologique et Pharmaceutique) N°46, juin 2007 Bips : Pharmacie : 68 593 58 Gériatopharmacologie: 68 565 60.
- **Carbonelle B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, Vargues R. (1987).** Bactériologie médicale, techniques usuelles. *Edition SIMEP. Paris, France.* 146-330p.
- **Cardenosa C. (1999).** Role of different routes of tracheal colonization in the development of pneumonia in patients receiving mechanical ventilation. 462-470p.
- **Cardenosa C. et al. (1999).** Role of different routes of tracheal colonization in the development of pneumonia in patients receiving mechanical ventilation. 462-470p.
- **Carlet J., Shlemmer B. (2015).** Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Bilan des

données de surveillance, 17 novembre 2015. Synthèse rédigée par l'Institut de veille sanitaire (InVS) et l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), en contribution au plan d'alerte sur les antibiotiques et avec le concours des partenaires de l'InVS dans le domaine. *Maladies infectieuses*.16 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>.

- **Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos G, M. Samore M. H.** (1999). Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 1379-1382p.
- **Carpentier J.P., Morillon M., Petrognani R., Cavallo J.D.** (2003). Infections à bacille pyocyanique. Encyclopédie : *Med Chir*.
- **CA-SFM.** (2000). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- **CA-SFM.** (2008).Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations. 50 p.
- **CA-SFM.** (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- **Castanheira M, Mills JC, Farrell DJ, Jones RN.** (2014). Mutation-driven  $\beta$ -lactam resistance mechanisms among contemporary ceftazidime-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. **58**: 6844–6850. doi: 10.1128/AAC.03681-14 PMID: 25182652.
- **Cavallo J.D., De Mouy D., Fabre R., Garrabe E., Armengaud M.** (1998) *Pseudomona aeruginosa* en pratique de ville : étude Aforcopibio 1995-1996. *Méd mal infect*. **28**: 258-259p.
- **Cavallo JD., De Mouy D., Fabre R., Garrabe E., Armengaud M.** (1998). *Pseudomona aeruginosa* en pratique de ville : étude AFORCOPIBIO 1995-1996. *Méd mal infect*. **28**: 258-259p.
- **Cavallo JD., De Mouy D., Fabre R., Garrabe E., Armengaud M.** (2005). *Pseudomona aeruginosa* en pratique de ville : étude AFORCOPIBIO 1995-1996. *Méd mal infect*. **28**: 258-259p.
- **CCLIN Paris-Nord** (2000). Antiseptiques et désinfectants.
- **CCLIN Sud-Ouest** (2001). Le bon usage des antiseptiques.

- **CCLIN Sud-Ouest.** (2016). Antibiotiques, antifongiques et résistances bactériennes en 2015 en Guadeloupe. 32p.
- **Chaker H.** (2012). Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat en Sciences agricoles. Université de Grenoble, France.
- **Chaplain C.** (1997). Conduite A Tenir Devant Une Bacterie Multiresistante. Service d'Hygiène-Bactériologie. Hôpital Delafontaine. 93205 Saint-Denis. *Mapar*. 11p.
- **Chastre J., Wolff M., Fagon J.Y., Chevret S., Thomas F., Wermert D. et al.** (2003). Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults, a randomized trial. 2588-2598p.
- **Chaussade H., Sunder S., Bernard L., Coloby P., Guy L., Karsenty G., Bastide C., Bruyère F.** (2013). Les médicaments antibiotiques en urologie. Association française d'urologie. Elsevier Masson France. *Prog Urol*. **23(15)**:1327-1341p. <http://www.urofrance.org/nc/science-et-recherche/base-bibliographique/article/html/les-medicaments-antibiotiques-en-urologie.html>.
- **Chemelle J.A.** (2010). Étude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I. Français. sous la direction de TERREUX R. et Pr. NICOLAS Je-F. <NNT : 2010LYO10318>. 221p.
- **Cheng K., Smyth R.L., Govan J.R., Doherty C., Winstanley C., Denning N., et al.** (1996). Spread of beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a cystic fibrosis clinic. *Lancet*. 39-42p.
- **Chengyi D., Zhirong Y., Jing W., Xinran L., Yu Cao., Yuting P., Lizhong H., Siyan Z.** (2016). Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with pneumonia in mainland China: a systematic review and meta-analysis. *ScienceDirect. Elsevier. International Journal of Infectious Diseases journal*. 119-128p. homepage: [www.elsevier.com/locate/ijid](http://www.elsevier.com/locate/ijid).
- **Cholley P.** (2010). Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'Est de la France. apport prédictif potentiel sur le risque infectieux. Thèse de doctorat. Université de Franche-Comté. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Besançon. Ecole Doctorale "Homme, Environnement, Santé". Besançon. 162p.

- **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).** (2014). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. M100-S24. Antimicrobial susceptibility testing standards. M02-A11, M07-A9, and M11-A8. **34(1)**. M100-S24. ISBN 1-56238-897-5 (Print). ISBN 1-56238-898-3 (Electronic).
- **Cockenpot L.** (2014). Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en motilité de type swarming et sa fonction écologique. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en Microbiologie Appliquée sous la direction de Déziel, Éric. Université du Québec : de Sherbrooke. *INRS. Institut National de la Recherche Scientifique Institut Armand-Frappier*.
- **Colom K., Fdz-Aranguiz A., Suinaga E., Cisterna R.** (1995). Emergence of resistance to beta-lactam agents in *Pseudomonas aeruginosa* with group 1 beta-lactamases in Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **14**:964–971p.
- **Cosgrove S.E.** (2006). « The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality. Length of Hospital Stay. and Health Care Costs ». *Clin. Infect. Dis.* janv. **42(Supp 2)**: 82-89p.
- **Costerton J.W.** (2001). Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Treds. Microbiol.* 50- 52p.
- **Courvalin P., Leclercq R.** (2006). AntibioGramme. Editions Eska.
- **Courvalin P., Goldstein F., Philippon A., Sirot J.** (1985). L'antibiogramme, MPC-Vidéom.
- **Craig W. A.** (1984). Pharmacokinetic and experimental data on beta-lactam antibiotics in the treatment of patients. *Eur J Clin Microbiol* **3**: 575-578p.
- **Craig W., Legget J., Totsuka K., Vogelmann B.** (1988). Key pharmacokinetic parameters of antibiotic efficacy in experimental animal infections. *J Drug Dev.* 1:7-15.
- **Crémieux A., Freney J.** (1995). Bases fondamentales de l'action antimicrobienne des antiseptiques et des désinfectants : les mécanismes d'action antimicrobienne. *Dans : Antiseptie et désinfection*, Fleurette J., Freney J. et Reverdy M.E., eds., Editions Eska. 23-37p.
- **CSHPF-CTIN.** (1998). Désinfection des dispositifs médicaux. Guide de bonnes pratiques. 119 p.

- **Daikos., Jackson., Lolans., Livermore.** (1990). Adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics from first-exposure downregulation. 213-541p.
- **Dalhoff A., Janjic N., Echols R.** (2006). « Redefining penems », *Biochem. Pharmacol.* **71(7)**: 1085-1095p.
- **Dali A.A.** 2015. Infections nosocomiales a bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adultes a l'EHUO: Profile épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed BENBELLA (Algérie). 197p.
- **Dash M., Padhi S., Narasimham M.V., Pattnaik S.** (2014).Antimicrobial resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various clinical samples in a tertiary care hospital, South Odisha, India. *Saudi J. Health Sci.* **3**:15-19p.
- **Davey M.E., O'Toole G.O.** (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* **64(4)**: 847-867p.
- **Davies J., Spiegelman G.B., Yim G.** (2006). The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Curr Opin Microbiol.* **9**:445–453p. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.006>.
- **Davis B.D.** (1987). *Microbiol. Rev.* **51**:341–350p.
- **Delarras C.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. *Edition Lavoisier.*
- **Dermoun Z.** (2014). Méthodes d'observation des microorganismes (Fascicule de principes techniques). Initiation à la recherche en microbiologie. 36p.
- **Deroissart H.B.** (1986). Les bactéries lactiques, In-Laits et produits laitiers. *Technique et documentation Lavoisier, Paris.* 343-407p.
- **Diggle S. P. Stacey R. E. Dodd C. Camara M. Williams P. Winzer K.** (2006). The galactophilic lectin, LecA. contributes to biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol.* 1095-1104p.
- **DiPiro J.T., Edmiston C.E., Jr Bohnen J. M.** (1996). Pharmacodynamics of antimicrobial therapy in surgery. *Am. J. Surg.* **171**: 615-622p.
- **Doi Y., Oliveira Garcia D., Adams J., Paterson D.** (2007). Coproduction of novel 16S RRNA methylase RmtD and metallo-beta-lactamase SPM-1 in a panresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**: 852–856p.

- **Doi Y., Wachino JI., Ishiguro M., Kurokawa H., Yamane K., Shibata N., Shibayama K., Yokoyama K., Kato H., Yagi T., Arakawa Y.** (2004). Inhibitor sensitive AmpC  $\beta$ -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrob Agents Chemother*; **48**: 2652-2658p.
- **Dou Y., Huan J., Guo F., Zhou Z., Shi Y.** (2017). *Pseudomonas aeruginosa* prevalence, antibiotic resistance and antimicrobial use in Chinese burn wards from 2007 to 2014. *Journal of International Medical Research*. **45**(3) 1124–1137p. DOI: 10.1177/0300060517703573. journals.sagepub.com/home/im.
- **Drusano G.L.** (1991). Human pharmacodynamics of betalactams, aminoglycosides, and their combinations. *Scand J Infect Dis*. **74**: 235–48.
- **Eagle H., Musselman A.D.** (1994). The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J Bacteriol*. 475-490p.
- **EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System)**. (2007). Annual Report.
- **Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Stratchounski L.** (2003). Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. **47**: 3724-32p.
- **Eggimann P., Revelly J.P.** (2006). Should antibiotic combinations be used to treat ventilator-associated pneumonia. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 68-81p.
- **Elmeskini K.** (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V Faculté De Médecine Et De Pharmacie -Rabat- These N°:7.
- **ENP (Enquête nationale de prévalence)**. (2012). Résultats des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin. résultats 2012. *Maladies infectieuses*.55p.
- **Evans D.J., Pier G.B., Coyne M.J., Goldberg J.B.** (1994). The *rfb* locus from *Pseudomonas aeruginosa* strain PA103 promotes the expression of O antigen by both LPS-rough and LPSsmooth isolates from cystic fibrosis patients. *Mol Microbiol*, **13**(3): 34-427p.

- **Evans K., Poole K.** 1999. The MexA-MexB-OprM multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa* is growth-phase regulated. *FEMS Microbiol. Lett.* **173**:35–39.
- **Eynard G.** (2013). Spécialiste Equipement VITEK® 2 technology bioMérieux.
- **Eyquem A., Luc M., Joseph E., Alouf.** (2000). Traité de microbiologie clinique: Deuxième mises à jour et compléments. *Edition : PICCIN.* 238 p.
- **Farajzadeh Sheikh A., Rostami S., Jolodar A., Tabatabaiefar MA., Khorvash F., Saki A., al.** (2014) Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol.* **7**: e12289. doi: 10.5812/jjm.12289 PMID: 25774271.
- **Fauchère JL.** (1997). Bactériofiches. Techniques en Bactériologie Clinique. *Edition Ellipses. Paris.* 174, 211p.
- **Faure K., Sawa T., Ajayi T., Fujimoto J., Moriyama K., Shime N et al.** (2004 ). TLR4 signaling is essential for survival in acute lung injury induced by virulent *Pseudomonas aeruginosa* secreting type III secretory toxins. *Respir Res.* 05-13p.
- **Feldman M., Bryan R. et al.** (1998). Role of flagella in pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection. 43-51p.
- **Ferrant Y.** (2013). Carte VITEK<sup>R</sup> 2 (biomerieux) : Evaluation de ses performances et comparzison à d'autres systèmes d'identification de bactéries anaerobies et de corynébactéries au Laboratoire de microbiologie du C.H.U. de Poitiers. Thèse de doctorat. Université de Poitiers. 109p.
- **Ferron A.** (1990). Bactériologie médicale. (15ème édition). *Edition C. et R.* 472p.
- **Finnen R. L., Martin N. L., Siehnel R. J., Woodruff W A., Rosok M. and Hancock R.** (1992). Analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* major outer membrane protein OprF by use of truncated OprF derivatives and monoclonal antibodies. 4977-4985 p.
- **Flamm R. K., Weaver M. K., Thornsberry C., Jones M. E., Karlowsky J. A., Sahm D. F.** (2004). Factors associated with relative rates of antibiotic 604 Lister Et Al. *Clin. Microbiol. Rev.* Resistance In *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 2431-2436p.

- **Flamm R.K., Weaver M.K., Thornsberry C. et al.** (2002). Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States.
- **Flandrois J.P.** (1997). Bactériologie médicale. Collection Azay. 207p.
- **Fourmy D., Recht M.I., Blanchard S.C., Puglisi J.D.** (1996). Structure of the A site of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA complexed with an aminoglycoside antibiotic. *Science*. **274**:1367–1371p. <https://doi.org/10.1126/science.274.5291.1367>.
- **Freeman C., Nicolau D., Belliveau P., Nightingale C.** (1997). Only-daily dosing of aminoglycosides: review and recommendations for clinical practice. *Antimicrobial Chemother.* 677-686p.
- **Fuentes F., Martin M.M., Gomez Lus M.L., Prieto J.** (1996). Pharmacodynamic effects of ciprofloxacin, fleroxacin and lomefloxacin in vivo and in vitro. *Chemotherapy* **42**: 354-362.
- **Galimand M., Courvalin P., Lambert T.** (2003). Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother.* **47(8)** : 71- 256p.
- **Galimand M., Sabtcheva P., Courvalin P., Lambert T.** (2005). Worldwide isseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene borne by composite transposon Tn1548. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 2949–2953p.
- **Gardès-Albert M. Bonnefont-Rousselot D. Abedinzadeh Z. Jore D.** (2003). Espèces réactives de l’oxygène, Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ? *L’actualité chimique*, 91-96p.
- **Garraffo R., Lavrut T., Signification.** (2005). Clinique des corrélations pharmacocinétique/pharmacodynamique des antibiotiques chez les patients de réanimation. *Réanimation.* **14**: 2 64-75p.
- **Gates M. L., Sanders C. C., Goering R. V., Sanders W. E.** (1986). Evidence for multiple forms of type I chromosomal beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **30**: 453–457p.
- **Gellen D.J.** (2007). Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* en médecine interne: revue rétrospective de 51 épisodes. Thèse de doctorat en médecine. Université Rêne Descartes. Faculté de Médecine Paris Descartes. 62p.

- **Gengo F.M., Mannion T.W., Nightingale C.H., Schentag J.J.** (1984). Integration of pharmacokinetics and pharmacodynamics of methicillin in curative treatment of experimental endocarditis. *J. Antimicrob. Chemother.* **14**: 619-631p.
- **Giuliani F., Docquier J.D., Riccio M.L., Pagani L., Rossolini G.M.** (2005). OXA-46, a new class D-lactamase of narrow substrate specificity encoded by a blaVIM-1-containing integron from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* **49(5)**: 1973-1980p.
- **Goldberg J.B., Pier G.B.** (1996). *Pseudomonas aeruginosa* Zipopolysaccharides and pathogenesis. *Trends in Microbiology.* 490-494p.
- **Gonzalez-Zorn B., Catalan A., Escudero J. A., Dominguez L., Teshager T., Porrero C., Moreno M. A.** (2005). Genetic basis for dissemination of *armA*. *J. Antimicrob. Chemother.* **56**: 583–585p.
- **Govan J.R., Deretic V.** (1996) Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol Rev* **60(3)**: 539-74p.
- **Grall N., Muller-Serieys C.** (2013), « Carbapénèmes », *EMC - Mal. Infect.*10(1): 1-10p.
- **Grare M.** (2009). De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphénols cycliques de type calixarène. Etudes moléculaire(s), cellulaire(s), et structurale(s) en vue de l'identification des cibles d'action : le cas du paraguanoéthylcalix[4]arène. Thèse de Doctorat En Sciences du Vivant. Ecole doctorale BioSE. Sous la direction de Pr.Freney J. et Maillard j.y. UMR 7565, Nancy Université, CNRS GEVSM.
- **Guerin-Fauble V., Carret G.** (1999). L'antibiogramme : principe. méthodologie. intérêt et limites. Proceedings des Journées Nationales GTV-INRA. Nantes (26-28 mai 1999). 5-13p.
- **Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B., Athmani-Guemouri S.** (2010). Microbiologie .Office des publications universitaires. 70-124p.
- **Guillemot D., Leclercq R.** (2005). Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. *Med Mal Infect.* **35 (3)**: 212-220p.
- **Gutierrez O., Juan C., Cercenado E., Navarro F., Bouza E., Coll P., Perez J. L., Oliver A.** (2007). Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance

- in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**:4329–4335p.
- **Hall R.M., Collis C.M.** (1995). Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol*, **15**(4): 593-600p.
  - **Hall R.M., Collis C.M.** (1998). Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of genes cassettes and integrons. *Drug Resist Updates*, **1**(2): 109-119p.
  - **Halley S., Gailleard J. L.** (1997). Infections microbienne au cours de la mucoviscidose : Aspects cliniques. épidémiologiques et thérapeutiques. - Feuillet de biologie. 79-85p.
  - **Hancock R. E.W., Brinkman F. S.** (2002). Function of pseudomonas porins in uptake and efflux. *Annu. Rev. Microbiol.* **56**: 17–38p.
  - **Hanson N. D., Sanders C. C.** (1999). Regulation of inducible AmpC beta-lactamase expression among Enterobacteriaceae. *Curr. Pharm. Des.* **5**: 881–894p.
  - **Harris A. A., Goodman L., Levin S.** (1984). Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia associated with the use of a home humidifier. *West. J. Med.* **141**:521–523p.
  - **Hikida M., Yamazaki Y., Kawashima K., Nishiki K., Mitsuhashi S.** (1995). Postantibiotic effect of carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antibiot (Tokyo)*. **48**: 891-89p.
  - **Hocquet D., Berthelot P., Roussel-Delvallez M., Favre R., Jeannot K., Bajolet O. et al.** (2007). *Pseudomonas aeruginosa* may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother.* **51**(10): 6-3531p.
  - **Hoffman L.R., D'Argenio D.A., MacCoss M.J., Zhang Z. Jones R.A., Miller S.I.** (2005). Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature.* **7054**(436): 5-1171p.
  - **Honore N., Nicolas M. H., Cole S. T.** (1989). Regulation of enterobacterial cephalosporinase production: the role of a membrane-bound sensory transducer. *Mol. Microbiol.* **3**: 1121–1130p.
  - **Hortense G. K., Toukam M., Sando Z., Marie Ndifo Ngamba J., Mbakop C.D., Adiogo D.** (2015). Caractérisation phénotypique des souches de *Pseudomonas*

- aeruginosa isolées dans la ville de Yaoundé (Cameroun). *African Journal of Pathology and Microbiology*. **4**:4p. ID 235908, Doi:10.4303/ajpm/235908.
- **Hugo W. B., Russell A. D.** (1992). Type of antimicrobial agents. In. Principales and Practice of disinfection. Preservation and Sterilisation. Russell A.D. Hugo W.B. et Ayliffe G.A. Eds *Blackwell Scientific Publications*. 7-88p.
  - **Igbalajobi O. A., Oluyeye A. O., Oladeji A. C., Babalola J. A.** (2016). Antibiotic Resistance Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Samples in Ekiti State University Teaching Hospital, Ado-Ekiti, Ekiti State of Nigeria. *Microbiology Research Journal*. SCIENCEDOMAIN international **12**(4): 1-6. Article no.BMRJ.22515.ISSN:2231-0886,NLMID:101608140. DOI:10.9734/BMRJ/2016/22515. www.sciencedomain.org.
  - **Igbalajobi O. A., Oluyeye A. O., Oladeji A. C., Babalola J. A.** (2016). Antibiotic Resistance Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Samples in Ekiti State University Teaching Hospital, Ado-Ekiti, Ekiti State of Nigeria. *Microbiology Research Journal*. SCIENCEDOMAIN international. **12**(4): 1-6. Article no.BMRJ.22515.ISSN: 2231-0886, NLM ID: 101608140.DOI: 10.9734/BMRJ/2016/22515 www.sciencedomain.org.
  - **INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médical)**.(1999). arences nutritionnelles : Etiologies et dépistage. 333p. *Expertise collective*. Paris. W 266267M..ISBN 2-85598-749-0. ISSN 1264-1782.
  - **INVS (Institut National de veille Sanitaire)**. (2016). <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2016/Consommation-d-antibiotiques-et-resistance-aux-antibiotiques-en-France-necessite-d-une-mobilisation-determinee-et-durable>
  - **Jana S., Deb JK.** (2006). Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Appl Microbiol Biotechnol*. Mar. **70**(2): 140-50p.
  - **Jander G., Rahme L.G., Ausubel F.M.** (2000). Positive correlation between virulence of *Pseudomonas aeruginosa* mutants in mice and insects. *J Bacteriol*. **182**:3843- 3845p.
  - **Jander G., Rahme L.G., Ausubel F.M.** (2000). Positive correlation between virulence of *Pseudomonas aeruginosa* mutants in mice and insects. *J Bacteriol*. (**182**): 3843-3845p.

- **Jason A.C., Mackenzie F.M., Gould L.M.** (1994). Automatic procedures for measuring postantibiotic effect and determining random errors. *Antimicrob Chemother.* **7**:669-678p.
- **Jean D.C., Fabre R.** (2004). *Pseudomonas aeruginosa*. in Maîtrise des infections nosocomiales de A à Z. Editions. *HEALTH – CO. Paris.* 63-72p.
- **Jeannot K., Plesiat P.** (2005). Therapeutic implications of antibiotic resistance in *pseudomonas aeruginosa*. *La lettre de l'infectiologue.* 7p.
- **Jehl F.M., Chomarat M., Weber A., Gérard.** (2004). De l'antibiogramme à la prescription. Editions bioMérieux, Marcy l'Etoile. France.
- **John P.H., Donald A., Klein ., Lansing M., Prescott ., Linda M ., Sherwood ., Joanne M., Willey., Christopher J., Woolverton.** (2003). Microbiologie. *De Boeck.*
- **Jones M.E., Draghi D.C., Thornsberry C., Karlowsky J.A., Sahn D.F., and Wenzel R.P.** (2004). Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit-a European and North American surveillance study (2000–2002). *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **3**: 14-26p.
- **Juan C., Macia M. D., Gutierrez O., Vidal C., Perez J. L., Oliver A.** (2005). Molecular mechanisms of beta-lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**:4733–4738p.
- **Juan C., Macia M. D., Gutierrez O., Vidal C., Perez J.L., Oliver A.** (2005). Molecular mechanisms of beta-lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 4733–4738p.
- **Juan C.M.D., Macia O., Gutierrez C., Vidal J. L., Perez A. Oliver.** (2005). Molecular mechanisms of beta-lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 4733–4738p.
- **Karlowsky J., Saunders M., Harding G., Hoban D., Zhanel G.** (1996). In vitro characterization of aminoglycoside adaptive resistance in *P. aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **40**:1387–93.
- **Karlowsky J.A., Draghi D.C., Jones M.E., Thornsberry C., Friedland I.R., Sahn D.F.** (2003). Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical

- isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States. 1998–2001. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**: 1681-1688p.
- **Karlowsky J.A., Kelly L.J., Thornsberry C., Jones M.E., Evangelista A.T., Critchley I.A., Sahm D.F.** (2002). Susceptibility to fluoroquinolones among commonly isolated gram-negative bacilli in: TRUST and TSN data for the United States. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **19**: 21–31p.
  - **Kettner M., Milosovic P., Hletkova M., Kallova J.** (1995). Incidence and mechanisms of aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* serotype O11 isolates. *Infection.* **23**: 380-3.
  - **Khan M.A., Faiz A.** (2016). Antimicrobial resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in tertiary care hospitals of Makkah and Jeddah. *Ann. Saudi Med.* **36**: 23-28p.
  - **Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., Collins J.J.** (2007). *Cell.* **130** : 797–810p.
  - **Kohler T., Pechere J.C., Plesiat P.** (1999) Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. *Cell Mol Life Sci.***56**: 771-8.
  - **Kong K.F., Jayawardena S. R., Indulkar S. D., Puerto A., Koh C.L., Hoiby N., Mathee K.** (2005). *Pseudomonas aeruginosa* AmpR is a global transcriptional factor that regulates expression of AmpC and PoxB betalactamases, proteases, quorum sensing, and other virulence factors. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 4567–4575p.
  - **Kos V.N., Deraspe M., McLaughlin R.E., al.** (2015). The resistome of *Pseudomonas aeruginosa* in relationship to phenotypic susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **59**: 427-436p.
  - **Krause K.M., Serio A.W., Kane T.R., Connolly L.E.** (2016). Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* **6**: a 027029p. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>.
  - **Kuga A., Okamoto R., Inoue M.** (2000). *ampR* gene mutations that greatly increase class C beta-lactamase activity in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**: 561–567p.
  - **Labia R. Morand A. Peduzzi J.** (1986). Timentin and beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **17**(Suppl. C): 17–26p.

- **Lacy M., Nicolau D., Nightingale C., Quintiliani R.** (1998). The pharmacodynamics of aminoglycosides. *Clin Infect Dis.* **27**: 2–7p.
- **Lamont I.L., Beare P.A., Ochsner U., Vasil A.I., Vasil M.L.** (2002). Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA.* **99**: 70-72 p.
- **Landman D.S., Bratu S., Kochar M., Panwar M., Trehan M., Doymaz J., Quale.** (2007). Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn. N.Y. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**: 78–82P.
- **Landman, D., Bratu S., Kochar S., Panwar M., Trehan M., Doymaz M., Quale J.** (2007). Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, N.Y. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**:78–82p.
- **Langaee T. Y., Dargis M., Huletsky A.** (1998). An *ampD* gene in *Pseudomonas aeruginosa* encodes a negative regulator of AmpC beta-lactamase expression. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**: 3296–3300p.
- **Langaee T. Y., Gagnon L., Huletsky A.** (2000). Inactivation of the *ampD* gene in *Pseudomonas aeruginosa* leads to moderate-basal-level and hyperinducible AmpC beta-lactamase expression. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**: 583–589p.
- **Lavoie J.P. Higgins R. Lavery S.** (1991). Aerobic bacterial isolates in a university hospital. 1986-1988. *Can Vet J.* **32**: 4-292p.
- **Laxminarayan R, Suraj Pant P. M., Brower C., Røttingen J-A, Klugman K., Davie S.** (2015). Antimicrobials: access and sustainable effectiveness 1: Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00474-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00474-2).
- **Laxminarayan R.** (2014). Antibiotic effectiveness: Balancing conservation against innovation. *Science* 345:1299p. DOI: 10.1126/science.1254163. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/medicine>.
- **Lazdunski A.** (1998). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et leur régulation. 109-118p.

- **Le Quellec F.** (2015). Bon usage des carbapénèmes : mise en place d'une évaluation des pratiques professionnelles comparant deux années de prescriptions. *Pharmaceutical sciences*. <dumas-01212350> disponible sur : <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01212350> (consulté le 01.02.2016).
- **Lechat P., Lagier G., Rouveix B., Vincens M., Weber S.** (1982): Abreges: Pharmacologie médicale. *Ed. Masson*.107-200p.
- **Lee J. Y, Ko K. S.** (2012). Opr D mutations and inactivation, expression of efflux pumps and AmpC, and metallo-beta-lactamases in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from South Korea. *Int J Antimicrob Agents* 40(2) : 168-172p.
- **Letendre E. D., Mantha R., Turgeon P.L.** (1988). Selection of resistance by piperacillin during *Pseudomonas aeruginosa* endocarditis. *J. Antimicrob. Chemother.* **22**:557–562p.
- **Li H., Luo Y. F., al.** (2012). Structure and fonction of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int J Med Microbiol* **302(2)**: 63-68p.
- **Lila G., Mulliqi-Osmani G., Bajrami R., Kurti A., Azizi E., Raka L.** (2017). The prevalence and resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital in Kosovo. *Le Infezioni in Medicina*.**1**: 21-26.
- **Lin JT., Connelly MB., Amolo C., Otani S., Yaver D.S.** (2005). Global transcriptional response of *Bacillus subtilis* to treatment with subinhibitory concentrations of antibiotics that inhibit protein synthesis. *Antimicrob Agents Chemother* **49**:1915–1926p.
- **Lindberg F., Lindquist S., Normark S.** (1988). Genetic basis of induction and overproduction of chromosomal class I beta-lactamase in non fastidious gram-negative bacilli. *Rev. Infect. Dis.* **10**: 782–785p.
- **Lister P. D., Gardner V. M., Sanders C. C.** (1999). Clavulanate induces expression of the *Pseudomonas aeruginosa* AmpC cephalosporinase at physiologically relevant concentrations and antagonizes the antibacterial activity of ticarcillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**: 882–889p.
- **Lister P.D., Daniel J., Wolter, Hanson N.D.** (2009). Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *CLINICAL MICROBIOLOGY*

- Reviews, American Society for Microbiology.* **22(4):**582–610p.  
doi:10.1128/CMR.00040-09.
- **Liu Q., Li X., Li W., al.** (2015). Influence of carbapenem resistance on mortality of patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection: a meta-analysis. *Sci. Rep.* **5:** 11715p.
  - **Livermore D. M.** (1992). Interplay of impermeability and chromosomal betalactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **36:** 2046–2048p.
  - **Livermore D. M., Yang Y.J.** (1987). Beta-lactamase lability and inducer power of newer beta-lactam antibiotics in relation to their activity against beta-lactamase-inducibility mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Infect. Dis.* **4:**775–782p.
  - **Livermore D.M.** (1995). beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* **8(4):**84-557p.
  - **Lobritz M.A., Belenky P., Porter C.B.M., Gutierrez A., Yang J.H., Schwarz E.G., Dwyer D.J., Khalil A.S., Collins J.J.** (2015). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **112:** 8173–8180p.
  - **Lombardi G., Luzzaro F., Docquier J.D., Riccio M.L., Perilli M., Coli A., Amicosante G., Rossolini G.M., Toniolo A.** (2002) .Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase. *J Clin Microbiol.* **40(11):** 4051-4055p.
  - **Lucet J.C.** (1998). Lutte contre les bactéries multi résistantes. *La revue du praticien* **48:** 1541-1546p.
  - **Maglio D., Nightingale C., Nicolau D.** (2002). Extended interval aminoglycoside dosing: from concept to clinic. *Int J Antimicrob Agents.* 21-45p.
  - **Maillard JY.** (2002). Bacterial target sites for biocide action. *J Appl Microbiol.* **92(Suppl):**16S-27S.
  - **Mainardi J.L., Goldstein F.W, Gutmann L.** (1996). Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *Maladies infectieuses. Encycl Méd Chir.***10:**8-10p.
  - **Mangin L.** (2016). Antibiotiques et résistances : Enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. pour obtenir. le Diplôme d'État de Docteur en

- Pharmacie. sous la direction de: Dr Béatrice Demoré Mcu-Ph Pharmacie clinique, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine et CHRU de Nancy. Université De Lorraine Faculté De Pharmacie Année Universitaire 2015-2016.
- **Marc V., Anne-Lise BG., Hervé B., Robin D. André P.** (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. *2ème édition américaine de Boeck université*. 973p.
  - **Marie O.H. et al.** (2000). In Précis de bactériologie clinique. Éditions : *ESKA*. Paris. 23-40p.
  - **Marín M., Gudiol C., Ardanuy C., Garcia-Vidal C., Jimenez L., Domingo-Domenech E., Pérez F.J., Carratalà J.** (2015). « Factors influencing mortality In neutropenic patients with haematological malignancies or solid tumours with bloodstream infection ». *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* févr.
  - **Maris P.** (1995). Modes of action of disinfectants. In : Disinfectants : actions and applications. McDaniel H.A. ed. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International d'Epizootics*. **14**: 47-55p.
  - **Martínez-Martínez L.** (2008). « Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and the permeability barrier ». *Clin. Microbiol. Infect.* Janv. (**14**):82-89p.
  - **Massicotte R., Bédard S., Boudreault S., Dupuis N., Yvan., Dumont J., Marchand R., Paillé M., Pichette G., Sicotte D., Soucy C., Bélanger P.** (2009). Désinfectants et désinfection en hygiène et salubrité. Principes fondamentaux. La Direction des communications du ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec: [www.msss.gouv.qc.ca/hygiene-salubrite](http://www.msss.gouv.qc.ca/hygiene-salubrite).
  - **Masterton R. G., Garner P. J., Harrison N. A., Rainford D. J.** (1987). Timentin resistance. *Lancet* **ii**: 975–976p.
  - **Masuda N., Sakagawa E., Ohya S., Gotoh N., Tsujimoto H., Nishino T.** (2000). Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, **44** (12) : 7-3322p.
  - **Matagne A, Lamotte-Brasseur J, Frère JM.** (1999). Catalytic properties of class A  $\beta$ -lactamases: efficiency and diversity. *Biochem J*. 330: 581-598.
  - **Mathlouthi N., Areig Z., Al Bayssari C., Bakour S., El Salabi A.D., Ben Gwierif S., Zorgani A. A., Ben Slama K., Chouchani C., Rolain J.M.** (2015). Emergence of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*

- baumannii* Clinical Isolates Collected from Some Libyan Hospitals. *Microbial Drug Resistance*. Epidemiology 21(3) : <https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0235>
- **McDonnell G., Russell A.D.** (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity. Action and esistance. *Clinical Microbiologi Reviews*. **12**: 147-179p.
  - **McGowan JE. Jr.** (2006). Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Infect Control*. 2006 Jun; **34** (5 Suppl 1): S29-37; discussion. S64-73.
  - **Mena K., Gerba C.** (2009). Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Rev Environmental Contamination and Toxicology* **201**: 71-115p.
  - **Meradji S., Barguigua A., Bentakouk M. C, Nayme K., Zerouali K., Mazouz D., Chettibi H., Timinouni M.** (2016). Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-lactamase- producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria. *Burns*. Elsevier. ScienceDirect. JBUR-4885.13p. [www.elsevier.com/locate/burns](http://www.elsevier.com/locate/burns).
  - **Mérens A., Jault P., Bargues L., Cavallo J-D.** (2013). Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *maladies infectieuses EM-consulte*. Elsevier Masson SAS.**12(B-50)**:8-025. Doi:10.1016/S1166-8598(12)56974-7.<http://www.em-consulte.com/article/776050/infections-a-pseudomonas-aeruginosa>.
  - **Meylan, S., Porter, C.B.M., Yang, J.H., Belenky, P., Gutierrez, A., Lobritz, M.A., Park, J., Kim, S.H., Moskowitz, S.M., and Collins, J.J.** (2017). *Cell Chem. Biol.* **2**: 195–206p.
  - **Miller G.H., Sabatelli F.J., Hare R.S., Glupczynski Y., Mackey P., Shlaes D., al.** (1997). The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms--changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns. Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clin Infect.* **24(1)**: 46-62p.
  - **Monday S. R., Sciller N. L.** (1996). Alginate synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* : the role of Alg L (Alginate Lyase). 625-632p.
  - **Montastruc A.M.** (1999). Antibiorésistance des souches bactériennes d'origine clinique. *Québec. Canada*. 88p.
  - **Morrison, A.J., Wenzel R. P.** (1984). Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev. Infect. Dis.* **6(Suppl. 3)**:S627–S642p.

- **Moya B., Dotsch A., Juan C., Blazquez J., Zamorano L., Haussler S., Oliver A.** (2009). Beta-lactam resistance response triggered by inactivation of a nonessential penicillin-binding protein. *PLoS Pathog.* **5**: e1000353.
- **Murray B.E., Rensimer E.R., DuPont H.L.** (1982). « Emergence of high-level trimethoprim resistance in fecal *Escherichia coli* during oral administration of trimethoprim or trimethoprim--sulfamethoxazole » *N. Engl. J. Med.* Janv. **306** (3):130-135p.
- **Mushtaq S., Ge. Y., Livermore D. M.** (2004). Doripenem versus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro: activity against characterized isolates, mutants, and transconjugants and resistance selection potential. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 3086–3092p.
- **Naas T., Sougakoff W., Casetta A., Nordmann P.** (1998). Molecular characterization of OXA-20, a novel class D lactamase, and its integron from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **42(8)**: 2074-2083p.
- **Navon-Venezia S., Ben Ami R., Carmeli Y.** (2005). Update on *pseudomonas aeruginosa* and *acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect.* 18-306p.
- **Nguyen J.C., Lambert T.** (2012). L'antibiogramme et son interprétation phénotypique : Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides. *Science directe. Elsevier. Revue Francophone des Laboratoires.* **445** : 75-77p. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71678-7](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71678-7).
- **Nikaido H.** (1989). Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**: 1831–1836p.
- **NNIS « National Nosocomial Infections Surveillance system ».**(2004). System Report. Data summary from January 1992 through June 2004. *Am J Infect Control.* **32**: 85-470p.
- **Nordmann N.** (2003). Mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Fr Anesthésie Réanim.* **22(6)**: 527-530p.
- **Nordmann P., Carrer A.** (2010). « Les carbapénèmes des entérobactéries », *Arch. Pédiatrie.* sept (17) : S154-S162p.

- Nordmann P., Guibert M. (1998). Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* **42(2)** : 92-128p.
- O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbio.* **54**: 49-79p.
- Obritsch M.D., Fish D.N., MacLaren R., Jung R. (2004). National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 4606-4610p.
- Ochs M. M., McCusker M. P., Bains M., Hancock R. E. (1999). Negative regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD selective for imipenem and basic amino acids. *Antimicrob Agents Chemother.* **43**:10 85-90p.
- Ohara T., Itoh K. (2003). Significance of *Pseudomonas aeruginosa* colonization of the gastrointestinal tract. *Intern. Med.* **42**:1072–1076p.
- Oliva B. Bennett P. M. Chopra I. (1989). Penicillin-binding protein 2 is required for induction of the *Citrobacter freundii* class I chromosomal beta-lactamase in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**: 1116–1117p.
- Olvera C. Goldberg J. B. et al. (1999). The *Pseudomonas aeruginosa* alg C gene product participates in rhamnolipid biosynthesis FEMS. 85-90p.
- OMS. (2014). Premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d'ampleur mondiale. 30 AVRIL 2014 ; Ge.
- OMS. (2015). Résistance aux antimicrobiens. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/fr/>.
- OMSa. (2018). De nouvelles données révèlent l'existence de niveaux élevés de résistance aux antibiotiques dans le monde. Sous la direction de Dr Tedros Adhanom Ghebreyesus, Directeur général de l'OMS. Centre de média. 29 janvier 2018. Région d'Afrique.
- OMSb. (2018). Résistance aux antibiotiques. Centre de média <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/r%C3%A9sistance-aux-antibiotiques>.
- ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques). (1998). Rapport d'activité du conseil scientifique pour l'année 1997.

- **ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques).** (2001). La résistance aux antibiotiques en France : bilan 2000 de l'ONERBA. 1-11p.
- **ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques).** (2015). Rapport d'activité *Annual report*. 15p.
- **Ortega B., Groeneveld A.B., Schultsz C.** (2004). Endemic multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **25(10)**: 31-825p.
- **O'Toole G.A., Pratt L.A., Watnick P.I., Newman D.K., Weaver V.B., Kolter R.** (1999). Genetic approaches to study of biofilms. *Methods Enzymol*. 91-109p.
- **Ouedraogo A.S., Jean Pierre H., Bañuls A.L., Ouédraogo R., Godreuil S.** (2017). Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisant et évaluation de la menace. *Médecine et Santé Tropicales. John Libbey Eurotext*. **27 (2)** : 147-54p. DOI : 10.1684/mst.2017.0678.
- **Ouedraogo A-S.** (2016). Prévalence, circulation et caractérisation des bactéries multirésistantes au Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Délivré par université de Montpellier. Préparée au sein de l'école doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé-ED 168 Et de l'unité de recherche INSERM 1058. Spécialité : Biologie Santé. Sous la direction de Sylvain GODREUIL, PU-PH, Université de Montpellier. 191p.
- **Oulymata G.** (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté de médecine et de pharmacie. 120p.
- **Pagès J.M.** (2004). Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Med Sci (Paris)*. Mar. **20(3)**: 346-51p.
- **Pai H., Kim J., Lee J.H., Choe K.W., Gotoh N.** (2001). Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. **45(2)**: 4-480p.
- **Patrice C., François D., Marie-Cécile P., Michel P., De Garilhe., Trieu-Cuot P.** (2017). Universalis. « ANTIBIOTIQUES ». *Encyclopædia Universalis* [en ligne]. consulté le 28janvier2017. URL: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques/>

- **Paul M., Benuri-Silbiger I., Soares-Weiser K., Leibovici L.** (2004). Beta lactam monotherapy versus beta lactam-aminoglyco-side combination therapy for sepsis in immunocompetent patients: systematic review and meta-analysis of randomised trials. 328- 668p.
- **Pavese P., Bonadona A., Vittoz J. P., Labarère J., Foroni L., Barnoud D., Stahl J. P. François P.** (2005). « Apport d'une consultation systématique d'infectiologie à la maîtrise de l'antibiothérapie en réanimation », *Réanimation*. Juin. **14(4)** : 281-287p.
- **Pea F., Viale P., Furlanut M.** (2005). Antimicrobial therapy in critically ill patients: a review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability. *Clin Pharmacokinet.* **44**: 1009-34p.
- **Pechère J.C., Micha-Hamzhepour M., Kohler T.** (1998). L'efflux antibiotique, un mécanisme de résistance multiple chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Bulletin de l'académie nationale de médecine.* **182(3)**: 599-615p.
- **Pellegrino F.L., Teixeira L.M., Carvalho M.G., Nouer S.A., De Oliveira M.P., Sampaio J.L., Freitas A.D., Ferreira A.L., Amorim E.L., Riley L.W., Moreira B.M.** (2002). Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro. Brazil. *J Clin Microbiol.* **40(7)**: 2420-2424p.
- **Pennington J.E.** (1988). Passive immunotherapy of infectious disease: lessons from the past directions for the future -Perspectives in antiinfective therapy. Ed Friedr. Vieweg and Sohn, Washington.
- **Pessi G., Haas D.** (2001). Dual control of hydrogen cyanide biosynthesis by the global activator GacA in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *FEMS (Fed Eur Microbiol Soc) Microbio. Lett,* **200**: 73-78p.
- **Petitjean O., Nicolas P., Tod M.** (2000). Pharmacodynamique des antibiotiques. In Martin C. Gouin F, Eds. Infections et antibiothérapie en réanimation, aux urgences et en chirurgie. Paris :Arnette. 13-61p.
- **Pfeifle D., Janas E., Wiedemann B.** (2000). Role of penicillin-binding proteins in the initiation of AmpC beta-lactamase expression in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**: 169–172p.
- **Philippon A.M., Paul G.A., Jacoby G.A.** (1983). Properties of PSE-2  $\beta$ -lactamase and genetic basis for its production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **24**:362-369p.

- **Piddock L. J.** (2006). Multidrug-resistance efflux pumps—not just for resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**: 629–636p.
- **Piffaretti JC.** (2006). Cours de microbiologie médicale pour étudiants en pharmacie. Université de Genève. Octobre.
- **Pigasse Ch.** (2017). Proposition d'un protocole d'analyses microbiologiques de substrats thermaux utilisés dans le cadre d'application cutanée. Projet de recherche. Université Paul Sabatier. UFR des Sciences Pharmaceutiques. *Laboratoire de microbiologie industrielle. Toulouse.* 12p.
- **Pirnay J.P., De Vos D., Cochez C., Bilocq F., Pirson J., Struelens M. et al.** (2003). Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in a burn unit: persistence of a multidrug-resistant clone and a silver sulfadiazine-resistant clone. *J Clin Microbiol.* **41(3)**: 202-1192p.
- **Pitt T. L.** (1998). *Pseudomonas, Burkholderia, and related genera*, p. 1109–1138. In Duerden B. I. *Microbiology and microbial infections*, vol. 2. Oxford University Press Inc., New York, NY.
- **Ploy M.C., Denis F., Lambert T.** (2000). Les intégrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries. *Médecine / Sciences.* **16(2)**: 255-259p.
- **Poirel L. Leviandier C. Nordmann P.** (2006). Prevalence and genetic analysis of plasmid mediated quinolone resistance determinants Qnr A and Qnr S in Enterobacteriaceae isolates from a French university hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**: 3992-7p.
- **Poirel L., Nordmann P.** (2005). Nomenclature of GES-type extended-spectrum  $\beta$ -actamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **49**: 2148-2150p.
- **Poirel L., Nordmann P.** (2005). Nomenclature of GES-type extended-spectrum  $\beta$ -actamases. *Antimicrob Agents Chemother* **49**: 2148-2150p.
- **Pollack M.** (1995). *Pseudomonas aeruginosa*, In G. L. Mandell R. Dolan, and J. E. Bennett (ed.). Principles and practices of infectious diseases. *Churchill Livingstone, New York, NY.* 1820–2003p.
- **Poole K.** (2002). Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Applied Microbiol Symposium Suppl.* **92**: 55S-64S

- **Poole K.** (2004). Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.* **10(1)**: 12-26p.
- **Poole K.** (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **49(2)**: 87-479p.
- **Prescrire.** (2000). Rédaction. Désinfectants, antiseptiques et détergents, ne pas confondre. *Rev.* **20(Suppl. risque)**: 931-2.
- **Prevot M.H., Andremont A., Sancho-Garnier H., Tancrede C.** (1986). «Epidemiology of intestinal colonization by members of the family Enterobacteriaceae resistant to cefotaxime in a hematology-oncology unit ». *Antimicrob. Agents Chemother.* Déc. **30(6)**: 945-947p.
- **Rahal K., Belouni R., Boudouane M., Tali-Maamar H., Missoum M.F., Aboun K. A., Benslimani A.** (2008). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle national (5<sup>ème</sup> édition). *Institut Pasteur. Alger.* 109p.
- **Ramos A., Kohler, Nikaido, Plésiat.** (1999). Involvement of an efflux system in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. & *Antimicrob Agents Chemother.* 8-24p.
- **Rhomberg P.R., Deshpande L.M., Kirby J.T., Jones R.N.** (2007). Activity of meropenem as serine carbapenemases evolve in US medical centers: monitoring report from the MYSTIC program (2006). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **59**: 425-432p.
- **Rhomberg P.R., Jones R.N.** (2007). Contemporary activity of meropenem and comparator broad-spectrum agents: MYSTIC program report from the United States component (2005). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **57**: 207-215p.
- **Richardot Ch.** (2015). Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé Soutenue le 03-12-2015 à Besançon , dans le cadre de École doctorale Environnements, Santé (Dijon ; Besançon ; 2012) , en partenariat avec Agents pathogènes et inflammation (API) (Besançon)(laboratoire) et de gents pathogènes et inflammation (API) (Besançon) (laboratoire). [http : www.thèses.fr/19650547X](http://www.thèses.fr/19650547X).
- **Riou M., Carbonnelle S., Avrain L., Mesaros N., Pirnay JP., Bilocq F., al.** (2010). In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of IntensiveCare Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *Int J Antimicrob Agents.* **36**: 513-522p. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.08.005 PMID: 20926262et.

- **Rodriquez-Martinez, J.M., Poirel L., Nordmann P.** (2009). Extended spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**:1766–1771p.
- **Rolston K.V.I., Bodey G.P.** (1992). *Pseudomonas aeruginosa* infection in cancer patients. *Cancer Investigation.* **10**: 43-59p.
- **Rossolini G.M., Mantengoli E.** (2008). Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy. *Clin Microbiol Infect.* **14 (Suppl 6)**:2-8p.
- **Ruiz L., Dominguez M.A., Ruiz N. Vinas M.** (2004). Relationship between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital setting. *Arch Med Res.* **35(3)**: 7-251p.
- **Russel, Hugo, Ayleffe's.** (2004). Principles and Practice of disinfection, preservation and sterilization. 4ème Ed, Oxford: Blackwell,
- **Russell AD.** (1999). Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems. *J Hosp Infect.* **43 (Suppl)**: S57-68.
- **Sahli F. Bendjama A. Mezaghcha W. Radji N.** (2014)a. Les bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* Laboratoire de microbiologie. CHU Sétif: faculté de médecine. Université Sétif1. Algérie. 10<sup>e</sup> Congrès National de la Société Française de Microbiologie. Le 31 mars - 1er avril 2014, Institut Pasteur, Paris. France.- Livre des résumés 31 mars - 1er avril 2014, Institut Pasteur, Paris. France. *Poster n°60.* 98p.
- **Sahli F., Bendjama A., Mezaghcha W., Radji N.** (2014)b. Laboratoire de microbiologie. CHU Sétif. faculté de médecine. Université Sétif1. Algérie Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with pneumonia in mainland China: a systematic review and meta-analysis *Author links open overlay panel.*
- **Saier M. H., Paulsen I. T., Sliwinski M. K., Pao S. S., Skurray R. A., Nikaido H.** (1998). Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria. *FASEB J.* **12**: 265–274p.
- **Sakyo S. Tomita H. Tanimoto K. Fujimoto S. Ike Y.** (2006). Potency of carbapenems for the prevention of carbapenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antibiot.* **59**: 220–228p.
- **Sanders C. C.** (1992). Beta-lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clin. Infect. Dis.* **14**: 1089–1099p.

- **Sanders C. C., Gates M. L., Sanders W. E.** (1988). Heterogeneity of class I beta-lactamase expression in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**: 1893–1895p.
- **Sanders C. C., Sanders E. C.** (1983). Emergence of resistance during therapy with newer beta-lactam antibiotics: role of inducible beta-lactamases and implications for the future. *Rev. Infect. Dis.* **5**: 639–648p.
- **Sanders C. C., Sanders W. E.** (1986). Type I beta-lactamases of gramnegative bacteria: interactions with beta-lactam antibiotics. *J. Infect. Dis.* **154**: 792–800p.
- **Sanders C.C., Bradford P. A., Ehrhardt A. F., Bush K., Young K. D., Henderson T. A., Sanders W. E.** (1997). Penicillin-binding proteins and induction of AmpC beta lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**:2013–2015 p.
- **Sanders C.C., Gates M.L., Sanders W.E.** (1988). Heterogeneity of class I beta-lactamase expression in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**:1893–1895p.
- **Sanders C.C., Sanders W.** (1986). Type I beta-lactamases of gramnegative bacteria: interactions with beta-lactam antibiotics. *J. Infect. Dis.* **154**:792–800p.
- **Sanders W. E., Sanders C. C.** (1988). Inducible beta-lactamases: clinical and epidemiological implications for use of newer cephalosporins. *Rev.Infect. Dis.* **10**: 830–838p.
- **Sanders, W. E., Sanders C. C.** (1988). Inducible beta-lactamases: clinical and epidemiological implications for use of newer cephalosporins. *Rev. Infect. Dis.* **10**:830–838p.
- **Santé publique France.** (2018). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti infectieux en établissements de santé, france, mai juin 2017. *Maladies infectieuses. Études et enquêtes.* 6p.
- **Santré Ch.** (1998). Prévention de la diffusion des bactéries multirésistantes. Prévention de la diffusion des bactéries multirésistantes en réanimation (C.H.R.A). Validé par : CLIN 1998. *Version : 01.*
- **Sarlangue J., Brissaud O., Labraze C.** (2006) Aspects cliniques de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives de Pédiatrie.* **13 Suppl 1.**

- **Satake S., Yoneyama H., Nakae T.** (1991). Role of OmpD2 and chromosomal beta-lactamase in carbapenem resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* **28**: 199–207p.
- **Schmidtke A. J., Hanson N. D.** (2008). Role of *ampD* homologs in overproduction of AmpC in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**: 3922–3927p.
- **Scully B. E., Ores C. N., Prince A. S., Neu H. C.** (1985). Treatment of lower respiratory tract infections due to *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Rev. Infect. Dis.* **7(Suppl.)**: 669–674p.
- **Sefraoui I.** (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Faculte des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre. Université abou bekr belkaid- tlemcen. Algérie ; sous la direction de Pr Drissi M.
- **Sekiguchi J.I., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T., Fujino T., Kobayashi I., Morita K., Kikuchi Y., Kuratsuji T., Kirikae T.** (2005). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its *aac (6')-iae* gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. *Antimicrob Agents Chemother.* **49(9)**: 3734-3742p.
- **Shafer J.J., Goff D.A., Mangino J.E.** (2009). Doripenem: a new addition to the carbapenem class of antimicrobials. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc.* **4**: 18-28p.
- **Shayne A.** (2009). VITEK<sup>R</sup> 2 compact, manuel d'utilisation. BioMerieux, Carolina. 190p.
- **Sheldon AT Jr.** (2005). Antiseptic "resistance": real or perceived threat? *Clin Infect Dis.* **40(11)**:1650-6.
- **Singh A., Goering RV., Simjee S., Foley SL., Zervos M.** (2006). Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev.* 19-30p.
- **Singletons P., Sinsburg D.** (1984). Abrégé de bactériologie. *Edition Masson.* 22- 68p.
- **Solbi S.** (2013). Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques. Thèse de Doctorat. Faculte de medecine et de pharmacie). Mouhamed V. S ouissi Rabat. Sous la direction de Pr. **El Hamzaoui.** 116p.

- **Somayaji R., Parkins MD.** (2015). Tobramycin inhalation powder: an efficient and efficacious therapy for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Ther Deliv.* **6**: 121–137p. doi:10.4155/tde.14.94 PMID: 25690082.
- **Soraa N., Zougaghi L., Zahlane K., Admou B., Haouach K., Kachach M., Chabaa L.** (2011). Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un centre hospitalo-universitaire marocain. Hôpital Mère enfant. CHU Mohammed VI, Marrakech. Maroc. *Revue Tunisienne d'Infectiologie.***5(2)** : 78– 81p.
- **Spellberg B., Bartlett J., Gilbert DN.** (2013). The future of antibiotics and resistance. *N Engl J Med.* **368**:299–302p.
- **Spivey J.M.** (1992). The postantibiotic effect. *Clin Pharm. pubmed* **11(10)8**: 65-75p.
- **Stobberingh E. E.** (1988). Induction of chromosomal beta-lactamase by different concentrations of clavulanic acid in combination with ticarcillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **21**: 9–16p.
- **Stratton C.W., Weinstein M.P., Reller L. B.** (1982). Correlation of serum bactericidal activity with antimicrobial agent level and minimal bactericidal concentration. *J. Infect. Dis.* **145** :160-168p.
- **Subrt N., Mesak L.R., Davies J.** (2011). Modulation of virulence gene expression by cell wall active antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* **66**: 979–984p.
- **Suh S.J., Silo-Suh L., Woods D.E., Hassett D.J., West S.E., Ohman D.E.** (1999). Effect of *rpoS* mutation on the stress response and expression of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* (**181**): 3890-3897p.
- **Takesue Y., Yokoyama T., Akagi S., Ohge H., Imamura Y., Murakami Y., Sueda T.** (2002). Changes in the intestinal flora after the administration of prophylactic antibiotics to patients undergoing a gastrectomy. *Surg. Today* **32**:581–586p.
- **Tam VH., Gamez EA., Weston JS., Gerard LN., Larocco MT., Caeiro JP., al.** (2008). Outcomes of bacteremia due to *Pseudomonas aeruginosa* with reduced susceptibility to piperacillin-tazobactam: implications on the appropriateness of the resistance breakpoint. *Clin Infect Dis.* **4**:862-867p. doi: 10.1086/528712 PMID: 18279040.
- **Tang H. M., Kays. et al.** (1995). Role of *Pseudomonas aeruginosa* pili in acute pulmonary infection. 1278-1285p.

- **Thacker S., Thacker B.** (1994). Historical development. In. Principles and practice of public health surveillance. S. Feutsch. R.E. Churchill. NY Oxford University Press. New York.
- **Thacker S.B.** (1994). Historical development. In : Principles and practice of public health surveillance. S. Feutsch. R.E. Churchill. NY Oxford University. *Press. New York.*
- **Thuong M., Arvaniti K., Ruimy R., de la Salmoniere P., Scanvic-Hameg A., Lucet J. C., Regnier B.** (2003). Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for arriage acquisition in an intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* **53**:274–282p.
- **Touati M.** (2013) Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Thèse de doctorat en microbiologie.Option : Microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba. 137p.
- **Trautmann M., Lepper P.M., Haller M.** (2005). Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control*, **5**(1): 9-41p.
- **Trias J., Nikaido H. a.** (1990). Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**: 52–57p.
- **Trias J., Nikaido H. b.** (1990). Protein D2 channel of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane has a binding site for basic amino acids and peptides. *J. Biol. Chem.* **265**: 15680–15684p.
- **Tsai S.H., Lai H.C., Hu S.T.** (2015). Subinhibitory doses of aminoglycoside antibiotics induce changes in the phenotype of *Mycobacterium abscessus*.
- **Valencia E.Y., Esposito F., Spira B., Blázquez J., Galhardo R.S.,** (2017). Ciprofloxacinmediated mutagenesis is suppressed by subinhibitory concentrations of amikacin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother. American Society for Microbiology. Antimicrobial Agents and Chemotherapy MECHANISMS OF RESISTANCE* **61**:e02107-16
- **Valles J., Mariscal D., Cortes P., Coll P., Villagra A., Diaz E., Artigas A., Rello J.** (2004). Patterns of colonization by *Pseudomonas aeruginosa* in intubated patients: a 3-year prospective study of 1607 isolates using pulsedfield gel electrophoresis with

- implications for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* **30**:1768–1775p.
- **Van Bambeke R., Balzi E., Tulkens P. M.** (2000). Antibiotic efflux pumps. *Biochem. Pharmacol.* **60**: 457–470p.
  - **Van Delden C., Iglewski B.H.** (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg Infect Dis.* **4**: 551-560.
  - **Vettoretti L.** (2009). Adaptation des mécanismes de résistance par efflux actif chez les souches de *pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose. Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé. Sous la direction de Patrick Plésiat et de Catherine Llanes. à Besançon, dans le cadre de École doctorale Homme, environnement, santé (Besançon).
  - **Viaene E., Chanteux H., Servais H., Mingeot-Leclercq M.P., Tulkens P. M.** (2002). Comparative stability studies of antipseudomonas beta-lactams for potential administration through portable elastomeric pumps (home therapy for cystic fibrosis patients) and motor-operated syringes (intensive care units). *Antimicrob Agents Chemother.* 2327-2332p.
  - **Wachino J., Yamane K., Kimura K., Shibata N., Suzuki S., Ike Y., Arakawa Y.** (2006). Mode of transposition and expression of 16S rRNA methyltransferase gene *rmtC* accompanied by *ISEcp1*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 3212–3215p.
  - **Weber D. A., Sanders C. C.** (1990). Diverse potential of beta-lactamase inhibitors to induce class I enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**: 156–158p.
  - **Weiss W.J., Petersen P.J., Jacobus N.V., Lin Y.I., Bitha P., Testa R.T.** (1999). In vitro activities of aminomethyl-substituted analogs of novel tetrahydrofuranyl carbapenems. *Antimicrob Agents Chemoter.* **43**: 454-459p.
  - **Weldhagen G.F., Poirel L., Nordmann P.** (2003). Ambler class A extended-spectrum betalactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* **47(8)**: 92-2385.
  - **Widmer A.F., Wenzel R.P., Trilla A., Bale M.J., Jones R.N., Doebbeling B.N.** (1993). Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a health care worker. *Clin Infect.* **16(3)**: 372-376p.

- **Woldanski J.** (2010). VITEK TM 2 technology, manuel d'utilisation du logiciel. Biomérieux, Carolina. 440p.
- **Wolff M.L., Joly-Guillou, Pajot O.** (2009). « Les carbapénèmes ». *Réanimation*. **(18)** : 199-208p.
- **Wolter D. J., Hanson N. D., Lister P. D.** (2005). AmpC and OprD are not involved in the mechanism of imipenem hypersusceptibility among *Pseudomonas aeruginosa* isolates overexpressing the *mexCD-oprJ* efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 4763–4766p.
- **Wolter D. J., Schmidtke A.J., Hanson N.D., Lister P.D.** (2007). Increased expression of *ampC* in *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected with ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**: 2997–3000p.
- **Wolter, D. J., Hanson N. D., Lister P. D.** (2008). Novel mechanism of *mexEF-oprN* efflux pump overexpression in *Pseudomonas aeruginosa* without coregulation of *oprD* expression, abstr. C1-1058. Abstr. 48th Intersci.Conf. *Antimicrob. Agents Chemother.* Washington, DC.
- **Wright G.D.** (1999). Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr Opin Microbiol* **2(5)**: 499-503p.
- **Wright GD.** (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* **57(10)**: 1451-70p.
- **Yamane K., Doi Y., Yokoyama K., Yagi T., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K., Kato H., Arakawa Y.** (2004). Genetic environments of the *rmtA* gene in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 2069–2074p.
- **Yamane K., Wachino J., Doi Y., Kurokawa H., Arakawa Y.** (2005). Global spread of multiple aminoglycoside resistance genes. *Emerg. Infect. Dis.* **11**: 951–953p.
- **Yayan J., Ghebremedhin B., Rasche K.** (2015). Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Pneumonia at a Single University Hospital Center in Germany over a 10-Year Period. *PLoS ONE.* **10(10)**: e0139836. Doi:10.1371/journal.pone.0139836 Editor: Mark A Webber. University of Birmingham. UNITED KINGDOM.

- **Yétérian E.** (2010). Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg. Strasbourg. 178p.
- **Yokoyama K., Doi Y., Yamane K., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K. et al.** (2003). Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet*. **362 (9399)** : 93-188p.
- **Yoshimura F., Nikaido H.** (1985). Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob. Agents Chemother.* **27**: 84–92p.
- **Zhanel G.G., Craig W.A.** (1994) Pharmacokinetic contributions to postantibiotic effects. Focus on aminoglycosides. *Clin Pharmacokinet.* **27**: 377-392.
- **Zhao, W. H., Hu Z. Q.** (2010). "Beta-lactamases identified in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*." *Crit Rev Microbiol.* **36(3)**: 245-258.
- **Zucarelli M., Simeon M., Maillols H., Dusart G., Attisson M.A.** (1998). Effet post antibiotique de la ciprofloxacine sur *Streptococcus faecalis*. *Path Biol.* 410-413p.

**PRODUCTION  
SCIENTIFIQUE**

## Research Article



## Monitoring the Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Resistance against Routine Antibacterial Agents

Nadjet Khacha<sup>1</sup>, Amel Bendjeddou<sup>1,\*</sup>, Tahar Abbaz<sup>1,3</sup>, Houria Chettebi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Aquatic and Terrestrial Ecosystems, Org. and Bioorg. Chem. Group, University of Mohamed-Cherif Messaadia, Souk Ahras, 41000, Algeria.

<sup>2</sup>Laboratory of biochemistry, University of Badji Mukhtar, Annaba, 2300, Algeria.

<sup>3</sup>Laboratory of Organic Materials and Hetero chemistry, University of Larbi Tebessi, Tebessa, 12000, Algeria.

\*Corresponding author's E-mail: [amel.bendjeddou@univ-soukahras.dz](mailto:amel.bendjeddou@univ-soukahras.dz)

Received: 20-03-2017; Revised: 18-04-2017; Accepted: 20-05-2017.

### ABSTRACT

Bacterial resistance to antibacterial is a major public health problem. To contribute to the monitoring of multidrug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*, we have tested 356 strains. These were isolated from pathological products of outpatient or inpatient. These strains were identified by the highlighted specific pigments and gallery API 20NE then submitted to several sensitivity tests against antibacterial agents. The latter was evaluated by the diffusion method on agar medium. For chlorinated water which is the most widely used disinfectant worldwide, we sought the lethal concentrations by liquid-based diffusion method. The results demonstrated that among the amino glycoside only amikacin showed significant efficacy. Among beta-lactam, the imipenem and piperacillin are the most effective relative to other antibiotics tested. Among the antiseptics tested only hydrogen peroxide at 10 volumes demonstrated efficacy compared with iodine alcohol at 10% and surgical alcohol at 70°. Strains tested showed a tolerance at concentrations at least most important chlorinated water at 13 °. The latter has a static effect only up to 2%.

**Keywords:** Multiresistant, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotics, antiseptics, disinfectant.

### INTRODUCTION

Bacterial resistance to antimicrobial agents is a growing problem in medical practice. As to the discovery of new antibiotics<sup>1</sup>, bacteria have gradually accumulated in their genetic material multi resistance genes<sup>2,3</sup>, the latter constitutes a major public health problem<sup>4</sup>. *Pseudomonas aeruginosa* (pyocyanique bacilli) is an opportunistic bacterium, able to adapt in any environments<sup>5-9</sup>. This species has a natural resistance to many antibiotics over time, the strains have developed acquired resistance to many antibiotics<sup>6</sup>. It is able to acquire new strengths against usually active compounds. It differs from other species occurring in the hospital by its relatively high pathogenicity against immune compromised patients (diabetes, cystic fibrosis, cancer, HIV, mechanical ventilation) and its cross resistance to many antibiotics of different families<sup>5,6</sup>. The severity and mortality observed in the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* infections are due to its intrinsic properties, its ability to adapt between the ability of others to acquire numerous mechanisms of resistance to many antibiotics and antiseptics<sup>8, 10, 11</sup>. The most disturbing fact of recent years is reporting more and more common *P. aeruginosa* strains resistant to an increasing number of antibiotics. In some cases, strains show totally resistant to all available molecules. This bacterium is a disease "problem", especially as very few new drugs are marketed by the pharmaceutical industry. Thus, several authors have sounded the alarm facing the imminent era of "post-antibiotic"<sup>10, 11</sup>. The emergence and dissemination of new mutants of *P. aeruginosa* are all

factors that can lead to treatment<sup>12</sup>. To face this challenge, health facilities should establish monitoring and control strategies. These actions involve multidisciplinary collaboration involving infectious disease specialists, microbiologists, hygienists and epidemiologists<sup>13</sup>. To contribute to the monitoring of multiresistant strains of this species. We focus in this letter, on the determination of the bacterial strains sensitivity profiles of *P. aeruginosa* isolated from different origins related to antibiotics (beta-lactam and aminoglycoside antibiotics), determination of effectiveness of commonly used antiseptics and search most used effective disinfectant concentrations (chlorinated water) for cleaning the premises.

### MATERIAL AND METHODS

#### Collection and transportation of strains

*Pseudomonas aeruginosa* strains tested in this study were collected from various medical bacteriology services, hospitals, clinics or private laboratory. We have been tested 356 strains multiresistant whose origins differ according to age, sex and type of sample patients of different categories. The strains tested were transported to the laboratory in conservation agar tubes.

#### Identification

Identification of *P. aeruginosa* was previously conducted based on phenotypical and morphological criteria (colony morphology, pigmentation, lactose fermentation, oxidase and catalase activity)<sup>14-16</sup>. Specific pigments pyocyanin and pyoverdine were detected by



using King medium A and King medium B<sup>16</sup>. The most interesting strains are identified by API 20NE kit biomerieux<sup>17,18</sup>.

**Determination of the sensitivity profiles against antimicrobial**

Antimicrobial susceptibility tests were performed according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>19</sup>.

**Antibiogram**

The resistance profile of the strains isolated for antibiotics was determined by the diffusion method on agar medium. The antibiotics used in this study were selected basically on their spectrum of activity that extends worm species studied. This was performed by the Kirby-Bauer disc diffusion method, which was performed using the Clinical Laboratory Standards International guidelines<sup>19</sup>.

**Antiseptogram**

This research aims to determine the susceptibility of isolated strains to antiseptics commonly used to disinfect the skin. Three antiseptics (surgical alcohol 70, iodine 10% alcohol and 10 volume hydrogen peroxide) were tested in this study. The method is applied by analogy to the diffusion susceptibility testing method on agar medium<sup>19</sup>. Using sterile forceps bacteriological; apply soaked disks with antiseptic to the surface of Muller Hinton agar seeded beforehand. Press each one of them to ensure its implementation. Once applied, the disk should not be moved and incubate 18 hours at 35 ° C. The diameters of the inhibition zones are accurately measured using a metallic caliper rule, outside of the closed box.

**Determining inhibitory concentrations of chlorinated water**

The method is applied by analogy to the method for determining minimum inhibitory concentrations bactericidal and bacteriostatic antibiotics by Broth Dilution Susceptibility Tests,<sup>20, 21</sup>.

They were determined according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines<sup>22</sup>. Prepare a series of different concentrations of chlorinated water at 13 ° in a Muller Hinton broth in test tubes in an amount of 5 ml per tube. Inoculate each tube with 500µl of the bacterial suspension equivalent to 0.5 McFarland opacity. After 18 hours incubation at 35°C; tubes with a concentration = disorder is not inhibitory, those not having a disorder = inhibitory concentration. To confirm the inhibition is static or bactericidal we reseeded negative tubes on agar box by longitudinal striated with four strains per dish.

**RESULTS AND DISCUSSION**

**Antibiogram**

The results of the susceptibility testing show that the tested strains have varying susceptibility profiles (Figure 1). All tested strains are resistant to penicillin novobiocin;

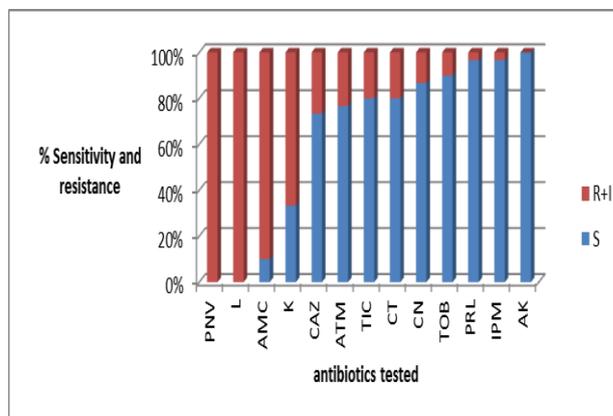
PNV and lincomycin; L (R + I = 100%). 90% of strains are resistant to amoxicillin + clavulanic acid (AMC) and 66.7% to kanamycin (K). The rate of resistance to ceftazidime (CAZ), aztreonam (TMJ), ticarcillin (ICT) and colistin (CT) are varied between 26.6%) and 20%.

However, it was noted that only 13.3% of the tested strains were resistant to gentamicin (CN) and only 10% to tobramycin (TOB). Too low resistance (3.3%) was observed for imipenem (IPM) and piperacillin (PRL). The Amikacin (AK) showed a greater efficiency, where no strain has shown resistance to this antibiotic. (Figure 1)

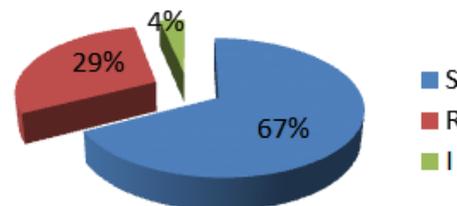
In general it was noted that resistance to β-lactam with a low 33% rates. Even the association of pinicilline novobiocin (PNV) has not shown efficacy against the tested strains (Figure 2).

It is lower for aminoglycosides with a tau of 18% whose sensitivity profile of the various tested aminoglycosides is variable. With the exception of amikacin that is the most effective (Figure 3).

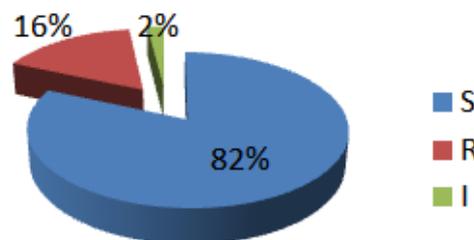
Figure 4 showed some photos of the antibiogram of some strains tested.



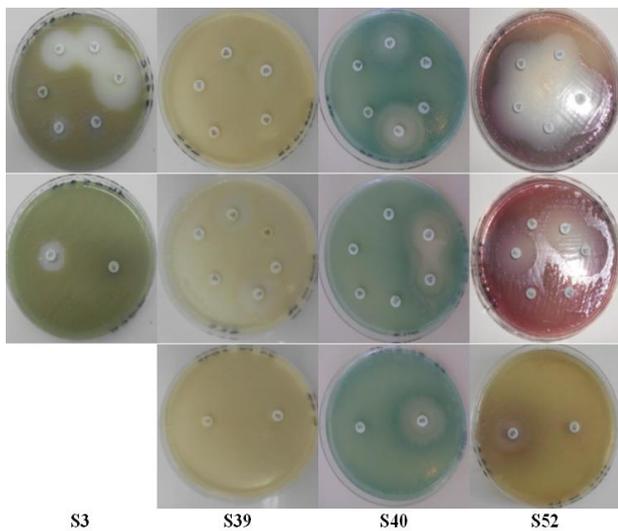
**Figure 1:** Results of the strains tested susceptibility patterns to antibiotics.



**Figure 2:** Results of the susceptibility patterns beta



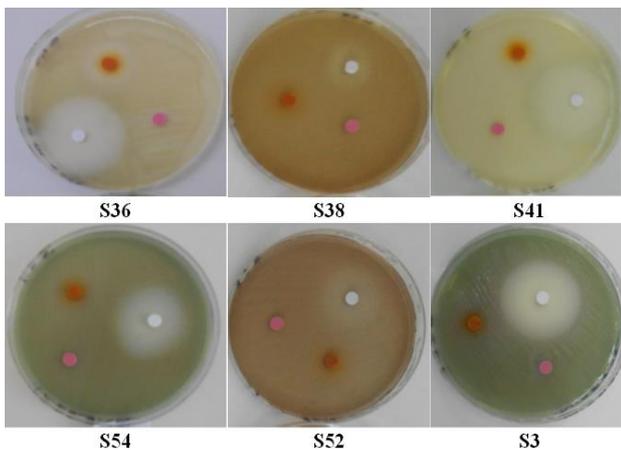
**Figure 3:** Results profiles sensitivity to aminoglycosides



**Figure 4:** Some photos of the antibiogram of some strains tested

**Antiseptogram**

The results of the antiseptogram (Figure 5) have shown that hydrogen peroxide at 10 volume is the most effective antiseptic on the *P. aeruginosa* strains tested. The zones of inhibition are very important (25mm to 45mm) relative to alcohol iodinated to 10%. This gave inhibition zones between 7 to 20mm. The surgical alcohol at 70° has resulted very weak inhibition zones (6 à15mm).



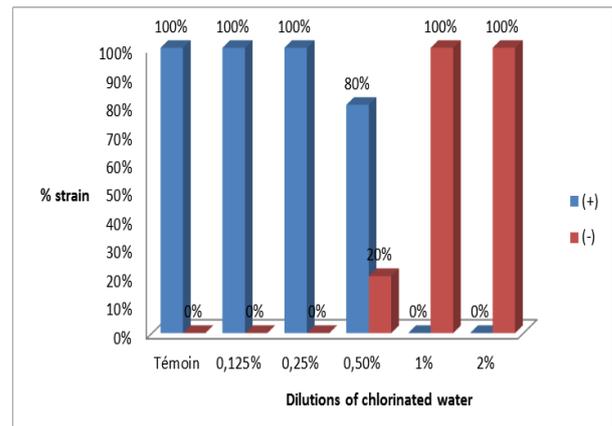
**Figure 5:** Some photos of anti septogramme of some strains tested

**Search inhibitory concentrations of chlorinated water**

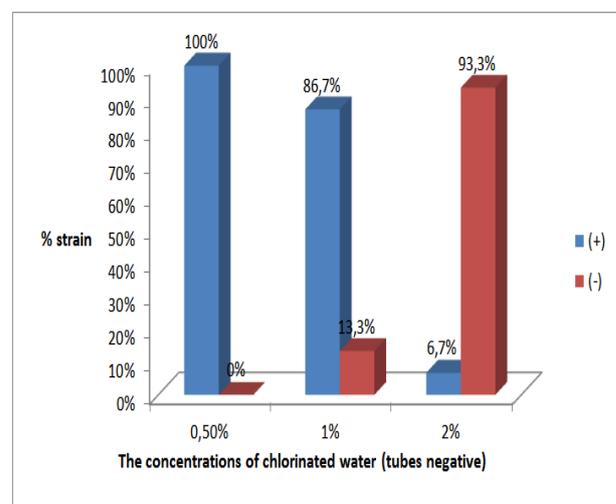
The research results of inhibitory concentrations of chlorinated water at 13 ° Chl, show that the tested strains can tolerate concentrations of chlorinated water to 0.5%. Only 20% of the strains tested were inhibited by this concentration. From concentration of 1%, chlorinated water showed an inhibitory activity for the strains tested (Figure6. Plate 3)

For confirmation of the inhibition, seeding negative tubes (show no disorder) on solid medium has shown that all strains are tolerant to the concentration of 0.5% in chlorinated water; 13.3% of the strains remain viable even at the concentration of 1% and 6.6% stem bore the

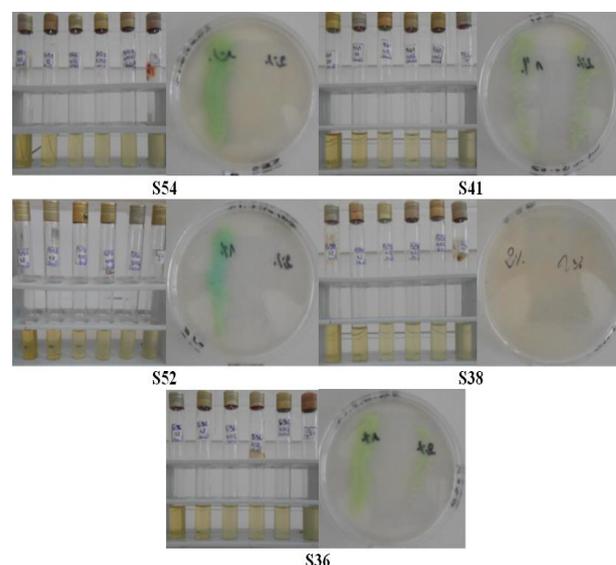
concentration of 2% (Figure 7, 8). Therefore, the strains tested show some resistance to chlorination, wherein the concentration of chlorinated water at 2% can only have a bacteriostatic effect on the tested strains.



**Figure 6:** Results of the strains tested susceptibility patterns to different concentrations of chlorinated water



**Figure 7:** Results of confirmation of inhibition by chlorinated water on solid medium



**Figure 8:** Some photo of the results of stem susceptibility profiles tested with chlorinated water

Amino glycoside in particular the amikacin is considered in literature as effective. Even the strains tested in this work have shown a remarkable sensitivity to this antibiotic as compared to other antibiotics tested.

Our study showed that only 13.3% of the tested strains were resistant to this antibiotic. Therefore gentamicin may be a drug of choice for some ill when the need to resort to the same antibiotic susceptibility in some countries if the use of this antibiotic is less secure than before.

This study allowed us to observe a significant increase in resistance to ceftazidime with a difference of 17.6%. While it did not reveal an evolution of resistance to imipenem which presented the lowest resistance rates for these three periods. Similarly the piperacillin and amikacin were found still effective against the strains tested.

Carmeli and al<sup>23</sup> have studied the risk of emergence of resistance associated with piperacillin, ceftazidime, ciprofloxacin and imipenem; they have observed a maximum risk for imipenem.

Results of Mohnarin showed that *P. aeruginosa* ranked second among all bacteria seen in nosocomial infections. Amikacin, levofloxacin, carbapenem, ceftazidime, and cefepime are usually employed to treat *P. aeruginosa* infections, but its resistance to these drugs and even multi-drug resistant *P. aeruginosa* is already rising year by year. Results of Mohnarin showed that the resistant rates of *P. aeruginosa* to the above-mentioned antibacterial agents were 21.9%, 31.7%, 33.2%, 29.9%, and 25.3%, respectively<sup>24</sup>. In addition, the US MYSTIC surveillance results were 10.4%, 22.4%, 7.3%, 9.8%, and 4.8%, respectively<sup>25-27</sup>.

The Korean National Survey of Antimicrobial Resistance has reported that 21%, 22%, and 22% of *P. aeruginosa* strains were resistant to ceftazidime, cefepime and imipenem, respectively<sup>28</sup>.

Similar results were seen in a report from 12 tertiary hospitals in Korea, in which 21%, 22%, and 26% of *P. aeruginosa* strains were resistant to ceftazidime, cefepime and imipenem, respectively<sup>29</sup>.

However, Sun and al found that 3.8%, 20.4%, and 2.4% of the *P. aeruginosa* strains isolated from patients were resistant to ceftazidime, ceftazidime, and imipenem, respectively. Differences between results may be due to differences in treatment modality and the frequency of antibiotic used in each diseases<sup>6</sup>.

The resistance of *P. aeruginosa* to beta-lactams is due to the existence of metallo-beta-lactamases and extended spectrum beta-lactamases, which confers resistance to most beta-lactam antibiotics,<sup>30</sup> *pseudomonas* are bacteria that accumulate many antibiotic resistance mechanisms, imposing a formal request for confirmation of the effectiveness of selected antibiotics<sup>31,32</sup>.

Indeed, *pseudomonas* possesses genetic factors likely to gain or lose the genes of antibiotic resistance, described as the integrons<sup>33, 34</sup>. These integrate can accommodate cassettes, mobile elements formed of a gene and a specific recombination website<sup>35,36</sup>.

Several classes integrons have been defined; three of them (classes 1, 2 and 3), well characterized, are involved in the spread of antibiotic resistance<sup>37</sup>.

The mechanism of the multi-drug resistance of *P. aeruginosa* mainly lies in the activation of bacterial active efflux systems and the loss of outer membrane protein. The major active efflux systems include MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexEF-OprN, which can be activated by the induction of some antibacterial agents or chemical agents such as meropenem, quinolones, and detergents<sup>38</sup>.

Incorrectly prescribed antibiotics also contribute to the promotion of resistant bacteria. Studies of Centers for Disease Control and Prevention have shown that treatment indication, choice of agent, or duration of antibiotic therapy is incorrect in 30% to 50% of cases<sup>39</sup>.

Some strains tested showed resistance to even the most antiseptic used with a tolerance at concentrations of the order of 2% by chlorinated water at 13 °.

Thus, this bacterium could escape inhibition by all antibacterial molecules. This probability calls to focus on the means of prevention to limit infections by *Pseudomonas* against which antibiotics is difficult.

The risk management phenomenon of movement and spread of antibiotic resistance requires the existence and coordination of monitoring networks, to account for the colossal work to have an overall picture taking into account all possible routes of transmission of resistance, common sense recommends action at the root of the problem.

Does the fight against microbial resistance needs reduction and rational use of antibiotics in both human and veterinary medicine which means a sale monitoring and antibiotic consumption? And is it possible to apply it outside the hospital?

Information of health professionals, farmers, food producers, industrial and consumer shows essential to make them aware of the problem where everyone is an actor at his level, and to encourage all means of prevention transmission resistance.

Furthermore does the emergence of resistant strains require the search for new antibiotics?

The improved prognosis of infections due to *P. aeruginosa* depends on how early the intensity and effectiveness of antibiotic therapy instituted probabilistically (empirical) initially and then possibly modified according to data from antibiogram and the clinical course. Must carry out bacteriological samples before and during treatment to the bacteriologist may



make available to the clinician one or more therapeutic alternatives to minimize the likelihood of treatment failure. But this practice is not present in medical practice.

Very specific therapeutic adjuvants such as inhibitors of efflux pumps that allow decreases in doses or sensitivities restoration are under development.

But before all, prevention is the key to the problems posed by *P. aeruginosa*. It goes through the strict application by all rules of hygiene, rational use of antibiotics and the use of laboratory to base treatment on susceptibility testing data. But why not think about the practice of using disinfectants?

## CONCLUSION

To contribute to the monitoring of multi resistance *Pseudomonas aeruginosa*, the results of the research profiles of sensitivities of strains collected against amino glycosides and beta-lactam antibiotics most used in Algeria showed that the tested strains have high resistance rates (60% to 100%) to penicillin, the novobiocin, the lincomicine, amoxicillin-acideclavulanique, and kanamycin. Antibiotics that are effective on the strains tested are: Amikacin (AK), with an 0% resistance tau and imipenem (IPM) and piperacillin (PRL) with a too low rate of resistance (3.3%).

The prevalence of resistance to imipenem was 81.53%. What to conclude that the evolution of resistance was not important to amikacin, and piperacillin imipenème. Even these antibiotics are always active, and show that they are the most effective antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* Antimicrobial susceptibility remains an indispensable application before prescribing the most effective antibiotic to prevent treatment failures.

The antiseptogram showed that hydrogen peroxide (at 10 volume) is most effective on the strains tested with respect to the surgical alcohol 70 ° and iodinated alcohol at 10%.

The research of the inhibitory concentration of chlorinated water at 13 ° on the tested strains shows that these strains can grow in the presence of concentrations of 0.25 to 1% of this disinfectant. In addition there are some which can withstand more than 2% concentrations. This could explain the causes of the increase in nosocomial infections with *Pseudomonas aeruginosa*, and especially those postoperative. So Systematic surveillance of antibacterial resistance coupled with medical education will allow a more rational use of antibiotics and help control increases in bacterial resistance.

**Acknowledgments:** This work was generously supported by the (General Directorate for Scientific Research and Technological Development, DGRS-DT) and Algerian Ministry of Scientific Research.

## REFERENCES

1. Mundy L, Pendry B, Rahman M. Antimicrobial resistance and synergy in herbal medicine. *Medicine*. June, 2016, 53-58.
2. Elise D, David R F. Leach Bacterial Genome Instability. *Microbiol Mol Biol Rev*. Mar, 78, 2014, 1-39.
3. Hiroshi N. Multidrug Resistance in Bacteria. *Annu Rev Biochem*.78, 2009, 119-146.
4. Kollef M. Review of Recent Clinical Trials of Hospital-Acquired Pneumonia and Ventilator-Associated Pneumonia: A Perspective from Academia. *Clin Infect Dis*. 51, 2010, 29-35.
5. Jeannot K., Plesiat P. Therapeutic implications of antibiotic resistance in *pseudomonas aeruginosa*. *La lettre de l'infectiologue*. 2005, 7.
6. Sun Kyu L, Dong Choon P, Myung Gu K, Sung Hyun B, Young Joon C, Jae Yong B, Moon Suh P, Seung Geun Y. Rate of Isolation and Trends of Antimicrobial Resistance of Multidrug Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* from Otorrhea in Chronic Suppurative Otitis Media. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. Mar, 5, 2012, 17-22.
7. Navon-Venezia S, Ben Ami R., Carmeli Y. Update on *pseudomonas aeruginosa* and acinetobacter baumannii infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect*. 2005, 18-306.
8. Trautmann M., Lepper P.M., Haller M. Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am. J. Infect. Control*. 5, 2005, 9-41.
9. Silby MW, Winstanley C, Godfrey SA, Levy SB, Jackson RW. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiol Rev*. 35(4), 2011, 652-680.
10. Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, Thornley PE, Pattermore PK, Grimwood K. Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*. 37, 1996, 64-1155.
11. 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*. 37, 1996, 13-809.
12. Dieter G, Weber, Etienne Ruppe. Sartelli and al. failure Antimicrobials: a global alliance for optimizing their rational use in intra-abdominal infections (AGORA) Massimo Sartelli1. *World Journal of Emergency Surgery*. 2016.
13. Cholley P, Thouverez M, Didier H, Nathalie M, Daniel T, Xavier B. Most Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Hospitals in Eastern France Belong to a Few Clonal Types. *J Clin Microbiol*. 49, 2011, 2578-2583.
14. Olvera C, Goldberg J B. The *Pseudomonas aeruginosa* alg C gene product participates in rhamnolipid biosynthesis *FEMS*. 1999, 85-90.
15. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*. 417, 2006, 552-555.
16. Eiko Y. and Ohyama A. Characterization of "Pyome1anin"-Producing Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Copyright of 972



- International Association of Microbiological Societies. Printed in U.S.A. Kansai Medical School, Department of Microbiology, Moriguchi-city, Osaka, Japan. 22, 1972, 53-64.
17. Dance DA, Wuthiekanun V, Naigowit P, and White N J. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical practice: use of simple screening tests and API 20NE. J Clin Pathol. 42, 1989, 645-648.
  18. Palmieri MJ, Caritó SL, Meyer RF: Comparison of rapid NPT and API 20 NE with conventional methods for the identification of gram-negative non-fermentative bacilli from pharmaceuticals and cosmetics. Appl Environ Microbiol. 54, 1988, 2838-2841
  19. CLSI. (Clinical and Laboratory Standards Institute). Advancing Quality in Health Care Testing Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011, 31, M100-S21.
  20. Vessoni Penna TC, Mazzola PG, Martins AM: The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs for hospital nurseries. J BMC Infectious Diseases. 1, 2001, 16.
  21. Tavares LC, Vessoni Penna TC, Amaral AT. Synthesis and biological activity of nifuroxazide and analogs. Boll Chim Farmaceutico. 3, 1997, 244-249.
  22. CLSI M100–S24. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 24th informational supplement. Wayne. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
  23. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. Antimicrob. Agents Chemother. 43, 1999, 1379-1382.
  24. Xiao Y H, Wang J, Zhao C Y. Mohnarin bacterial resistance surveillance 2006-2007. Chin J Nosocomiol. 18, 2008, 1051-1056.
  25. Sadera H S, Fritschea T R, Jones R N. Potency and spectrum trends for cefepime tested against 65746 clinical bacterial isolates collected in North American medical centers: Results from the SENTRY Antimicrobial. Surveillance Program (1998-2003). Diag Microbiol Infect Dis. 52, 2005, 265-273.
  26. Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Apr, 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>.
  27. Luyt CE, Brechot N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. Crit Care. 18, 2014, 480.
  28. Lee K, Kim YA, Park YJ, Lee HS, Kim MY, Kim EC. Increasing prevalence of vancomycin-resistant enterococci, and ceftioxin-, imipenem- and fluoroquinolone-resistant gram-negative bacilli: a KONSAR study in 2002. Yonsei Med J. 45, 2004, 598-608.
  29. Lee H, Yong D, Lee K, Hong SG, Kim EC, Jeong SH. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2004. Korean J Clin Microbiol. 8, 2005, 66-73.
  30. Lombardi G., Luzzaro F., Docquier J.D., Riccio M.L., Perilli M., Coli A., Amicosante G., Rossolini G.M., Toniolo A. Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase, J Clin Microbiol, 40, 2002, 51-55.
  31. Widmer AF, Wenzel RP, Trilla A, Bale MJ, Jones RN, Doebbeling BN. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a health care worker. Clin Infect. 16, 1993, 372-376.
  32. Pellegrino FL, Teixeira LM, Carvalho MG, Nouer SA, De Oliveira MP, Sampaio JL, Freitas AD, Ferreira AL, Amorim EL, Riley LW, Moreira BM. Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. J Clin Microbiol. 40, 2002, 2420-2424.
  33. Naas T, Sougakoff W, Casetta A, Nordmann P. Molecular characterization of OXA-20, a novel class D  $\beta$ -lactamase, and its integron from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 42, 1998, 2074-2083.
  34. Giuliani F, Docquier JD, Riccio ML, Pagani L, Rossolini GM. OXA-46, a new class D  $\beta$ -lactamase of narrow substratespecificity encoded by a blaVIM-1-containing integron from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 49, 2005, 1973-1980.
  35. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol. 15, 1995, 593-600.
  36. Sekiguchi JJ, Asagi T, Miyoshi-Akiyama T, Fujino T, Kobayashi I, Morita K, Kikuchi Y, Kuratsuji T, Kirikae T. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its *aac(6')-iae* gene cassette encoding a novel amino glycoside acetyl transferase. Antimicrobial Agents Chemother. 49, 2005, 3734-3742.
  37. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol. 15, 1995, 593-600.
  38. Yonghong Xiao. Nosocomial Infections and Bacterial Resistance. Infectious Microecology. Zhejiang University Press, Hangzhou and Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 5, 2014, 109.
  39. Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States. Studies of Centers for Disease Control and Prevention. Apr, 2013.

**Source of Support: Nil, Conflict of Interest: None.**



## Résumé :

L'optimisation de l'antibiothérapie est un facteur important dans l'amélioration de l'efficacité de la thérapeutique anti-infectieuse et la diminution des risques d'émergence de résistance et des coûts. *P. aeruginosa* a acquis ces dernières années des résistances à de nombreux antibiotiques. Elle est classée dans la première position comme agent redoutable incriminé dans les infections épidémiologiques. Afin de contribuer à la surveillance de l'évolution de la résistance de cette bactérie, nous avons étudié l'antibiorésistance de 390 souches pathologiques vis-à-vis des aminosides et bêta-lactamines les plus utilisés en Algérie. Les résultats montrent que l'évolution de la résistance aux aminosides est plus faible que celle aux bêta-lactamine. En plus cette évolution n'est pas linéaire dans le temps. Cependant, des poussées des concentrations minimales inhibitrices sont observées. En addition, nos résultats montrent des effets variables des deux aminosides (amikacine, gentamicine) et le bêta-lactamine (imipenème) testés, contre les différentes catégories des isolats cliniques étudiés (sensibles/résistantes) ; ils peuvent être bactéricides, bactériostatiques ou tolérés par certaines souches. Donc, l'antibiogramme avec détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) demeure une demande indispensable à l'optimisation de l'antibiothérapie. En parallèle, un effet post antibiotique est observé après une exposition des cellules vivantes de *P. aeruginosa* à des concentrations inhibitrices (CMI, 10CMI, CMB) pendant des temps variables (30min, 60min, 120min) pour l'amikacine et l'imipenème. Ces concentrations peuvent induire un retard de croissance même pour un temps de contact court. En outre la probabilité d'une recroissance est toujours présente pour les cellules exposées à des concentrations seulement inhibitrices (CMI). En général, même pour les souches qui apparaissent résistantes sur antibiogramme, l'amikacine est un antibiotique concentration-dépendant. Par contre l'imipenème reste un antibiotique temps-concentration dépendants. Nous avons remarqué aussi que le temps pendant lequel la concentration demeure maintenue à la CMB de la souche combattue est le meilleur paramètre prédictif de leur efficacité. Donc il y'a toujours un accès des sites d'actions cellulaires ce qui augmente l'espoir de la possibilité de protection de l'arsenal antibactérien disponible par la compréhension du mécanisme moléculaire d'induction et d'activation de division cellulaire en présence des antibiotiques.

## MOTS CLES :

*P. aeruginosa* , résistance, bêtalactamines, aminosides, effet post-antibiotique.

## **Abstract :**

The optimization of antibiotic treatments is an important factor in improving the effectiveness of anti-infectious therapy, reducing the risks of emergence of resistance and costs. *P. aeruginosa* has acquired in recent years resistance to many antibiotics in addition it is classified in the first position as formidable agent incriminated in the epidemiological infections (aminoglycoside, betalactam). To contribute to the monitoring of multidrug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*, we have tested 390 strains. These were isolated from pathological products against the aminosid and et béta-lactam most used in Algeria. Results show that the evolution of aminoglycoside resistance is lower than that of beta-lactam. This evolution is not linear in time. However, outbreaks of minimal inhibitory concentrations (MIC) are observed. In addition, our results show variable effects of the two aminoglycosides (amikacin, gentamicin) and betalactamine (imipenem) tested, countering the different categories of clinical isolates studied (sensitive / resistant); they can be bactericidal, bacteriostatic or tolerated by certain strains. Therefore, antibiogram with determination of minimal inhibitory concentrations remains an essential demand for the optimization of antibiotic therapy. In other fact, a post-antibiotic effect is observed after exposure of *P. aeruginosa* live cells to inhibitory concentrations (MIC, 10MIC, CMB) for varying times (30min, 60min, 120min) for both antibiotics amikacin (aminoglycoside) and imipenem (beta-lactam). These concentrations can induce growth retardation even in short contact time. In addition, the probability of re-growth is still possible for cells exposed only to inhibitory concentrations (MIC). In general, even for strains that appear resistant to antibiogram, amikacin is a concentration-dependent antibiotic. On the other hand, imipenem remains a time-concentration-dependent antibiotic.

It has also been noted that the time during which the concentration remains at the CMB of the strain being fought is the best predictor of their effectiveness. So there is always an access to cellular action sites which increases the hope of the possibility of protecting the available antibacterial arsenal, by understanding the molecular mechanism of induction and activation of cell division in the presence of antibiotics.

## **Keywords :**

*P. aeruginosa*, resistance, beta-lactams, aminoglycosides, post-antibiotic effect.

## الملخص

توضح أن الاستفادة المثلى من العلاج بالمضادات الحيوية هو عامل مهم في تحسين فعالية العلاج ضد العدوى، مما يقلل من مخاطر ظهور المقاومة والتكاليف. إضافة إلى ذلك لقد اكتسبت *P. aeruginosa* مقاومة للعديد من المضادات الحيوية (أمينوغليكوزيدات، بيتالاکتامينات) وتصنف في المركز الأول كمسبب أول للالتهابات الوبائية. من أجل المساهمة في رصد تطور مقاومة هذه البكتيريا تم اختبار 390 سلالة مرضية ضد الأمينوغليكوزيدات وبيتالاکتام الأكثر استخدامًا في الجزائر. تظهر النتائج أن تطور مقاومة الأمينوغليكوزيد أقل من البيتا لاکتامين. لكن هذا التطور ليس خطيا في الوقت. ومع ذلك، لوحظ ارتفاع الحد الأدنى من التركيزات المثبطة (MIC). بالإضافة إلى ذلك، تظهر نتائجنا تأثيرات متغيرة من الأمينوغليكوزيدات (amikacin، جنتاميسين) وبيتالاکتام (imipenem) المختبرة ضد مختلف فئات العزلات السريرية المدروسة (الحساسية / المقاومة)؛ حيث يمكن أن تكون مبيدة للجراثيم، مثبطة أو تتحملها السلالات، مما يؤكد أن سلم المضاد الحيوي مع تحديد الحد الأدنى من التركيزات المثبطة (MIC) يبقى مطلبًا أساسيًا لتحسين العلاج بالمضادات الحيوية. في موازاة ذلك، لوحظ تأثير المضاد الحيوي حتى بعد ازالته من الوسط (التأثير البعدي للمضاد الحيوي) بتعرض الخلايا الحية *P. aeruginosa* إلى تركيزات مثبطة (MIC، 10MIC، MBC) لأوقات متفاوتة (30 دقيقة، 60 دقيقة، 120 دقيقة) للمضادات الحيوية اميكاسين (أمينوغليكوزيدات). و imipenem (بيتا لاکتام). هذه التركيزات يمكن أن تحفز تأخر النمو حتى بعد وقت اتصال قصير. بالإضافة إلى ذلك، فإن احتمال إعادة النمو يبقى موجودًا للخلايا المعرضة لتركيزات مثبطة فقط (MIC). بشكل عام، حتى بالنسبة للسلالات التي تبدو مقاومة للمضادات الحيوية، فإن amikacin عبارة عن مضاد حيوي يعتمد على التركيز. و يبقى imipenem مضاد حيوي يعتمد على الوقت و التركيز. كما لوحظ أن الوقت الذي بقي فيه التركيز عند CMB للسلالة التي يتم مكافحها هو أفضل مؤشر لفعاليتها. مما يؤكد وصول المضاد الحيوي إلى مواقع عمله على مستوى الخلوي مما يزيد من الأمل في إمكانية حماية ترسانة مضادة للبكتيريا المتاحة من خلال فهم الآلية الجزيئية للتحريض وتفعيل انقسام الخلايا في وجود المضادات الحيوية.

## الكلمات الرئيسية:

الزائفة الزنجارية، المقاومة، أمينوغليكوزيدات، بيتالاکتامين، التأثير البعدي للمضاد الحيوي

# RESUME

# ANNEXE

# Annexe 1 : Tableaux des prélèvements

**Tableau 01:** Répartition des prélèvements selon le sexe

Sexe	effectif des souches
femme	258/535(48.22%)
Homme	249/535 (46.54%)
adulte	19/535 (3.55%)
enfant	09/535(1.68%)

**Tableau 02:** Répartition des prélèvements selon l'âge et le sexe

Age /sexe	Homme	Femme	Enfant	Non déterminé
2mois-2ans	13	/	/	/
2ans-13	/	/	/	/
enfant	/	34	9	/
adulte	111	187	/	/
16-19	/	4	/	/
20-29	16	/	/	/
30-39	/	15	/	/
40-49	48	14	/	/
50-59	29	/	/	/
60-69	32	/	/	/
70-79	/	4	/	/
Non déterminé				19

**Tableau 03:** Répartition des prélèvements selon les l'origine pathologique

Origine pathologique	Fréquence
ECBU	345/535 (64.49%)
pus	75/535 pus (14.01%) (10oreille, 65 non déterminé de quel site)
lésion chirurgicale	10/535 lésion chirurgicale (1.87) (dont l'age est compris entre 20 et 40 ans)
Liquide pleural	11 /535 (2.05) pleural
prélèvement vaginal.	4/535 (0.74%)
Plaie	6/535 (1.12%)
Sonde gastrique	2/535 (0.37%)
Non déterminé	82/535 (15.32%)

**Tableau 04:** Répartition des prélèvements selon les services

Service	Effectif des souches
non déterminé	375/535(70.09%)
Pédiatrie	21/535 (03.92%)
Consultation externe	18/535 (03.36%)
Infectieux	05/535 (00.93%)
pneumologie	35/535 (06.54%)
Urologie	15/535 (02.80%)
Réanimation	10/535 (01.86%)
médecine interne	15/535 (02.80%)
Orl	22/535 (04.11%)
Endocrinologie	19/535 (03.55%)

## Annexe 2 : Tableaux de l'Api20NE

**Tableau 05:** Tableau de lecture de l'Api 20NE (BioMérieux SA)

Tests	Composants actifs	Réaction/enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
NO <sub>3</sub>	Potassium nitrate	réduction des nitrates en nitrites	<b>NIT 1 +NIT 2/ 5 min</b>	
		réduction des nitrates en azote	Incolore	Rose-rouge
			<b>Zn/ 5min</b>	
			Rose	incoloré
TRP	L-tryptophane	formation d'indole	<b>Kovacs/ immédiat</b>	
			Incolore Vert pâle/ jaune	Rose
<u>GLU</u>	D-glucose	fermentation	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	arginine Dihydrolase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
<u>URE</u>	Urée	Uréase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
ESC	Esculine citrate de fer	Hydrolyse (β-glucosidase)	Jaune	Gris/ marron/ noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	Hydrolyse de la gélatine (protéase)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	jaune
GLU	D-glucose	assimilation	transparente	Trouble
ARA	L-arabinose	assimilation	transparente	Trouble
MNE	D-mannose	assimilation	transparente	Trouble
MAN	D-mannitol	assimilation	transparente	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation	transparente	Trouble
MAL	D-maltose	assimilation	transparente	Trouble
GNT	Potassium gluconate	assimilation	transparente	Trouble
CAP	Acide caprique	assimilation	transparente	Trouble
ADI	Acide adipique	assimilation	transparente	Trouble
MLT	Acide malique	assimilation	transparente	Trouble
CIT	Trisodium citrate	assimilation	transparente	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	assimilation	transparente	Trouble

Tableau 06 : Tableau d'identification de l'Api 20NE (BioMérieux SA)

API 20 NE	V7.0	NOI	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLUa	ARAs	MNEs	MANs	NAGs	MALs	GNTs	CAPs	ADIs	MLTs	CITs	FACs	OX
Achromobacter denitrificans	99	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	98	20	98	98	94	93	100
Achromobacter xylosoxidans	81	0	0	1	0	0	1	0	99	0	30	1	1	1	100	81	84	99	98	98	98	100
Acinetobacter baumannii/colocacetius	2	0	8	0	1	1	1	0	87	70	1	1	1	1	20	88	89	100	99	87	0	0
Acinetobacter haemolyticus	1	0	14	0	0	0	98	0	1	0	0	0	0	0	0	98	2	98	81	1	0	0
Acinetobacter junii/johnsonii	1	0	0	0	1	0	0	0	24	8	2	0	0	0	0	98	4	96	70	0	0	0
Acinetobacter lawfi	3	0	0	0	2	0	0	0	11	1	0	1	1	0	0	70	20	48	1	38	0	0
Acinetobacter radfordiensis	2	2	0	2	0	0	0	0	19	2	0	0	0	2	0	97	100	2	2	97	0	0
Aeromonas hydrophila/baviae	99	89	99	78	1	89	87	98	99	80	78	99	99	99	95	84	1	99	37	1	99	0
Aer.salm.ssp.mesocida/achromogenes	100	21	9	0	0	2	33	0	88	0	33	60	2	21	2	0	0	0	2	0	0	0
Aeromonas salmonicida ssp.salmonicida	100	0	67	38	0	100	99	18	94	1	0	98	84	99	99	0	1	99	1	0	100	0
Aeromonas sobria	100	98	98	98	0	1	99	99	100	12	99	99	99	100	100	93	0	99	81	0	100	0
Alcaligenes faecalis 1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3	77	7	100	97	97	98
Alcaligenes faecalis 2	78	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	98	78	81	100	88	73	100
Bergeyella zoohelcum	0	0	0	0	99	0	74	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	99
Bordetella avium	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	100	100	95
Bordetella bronchiseptica	78	0	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	84	85	81	88	100	0
Brevundimonas dimorpha/Cilgella unithalis	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	99	33	0	100	0
Brevundimonas vesiculans	16	0	0	0	0	98	12	84	72	1	1	3	10	72	1	1	1	40	0	0	0	98
Burkholderia cepacia	38	0	24	1	1	48	70	72	100	76	98	98	98	8	97	99	83	100	99	99	81	0
Burkholderia pseudomallei	100	0	0	98	0	5	100	0	100	0	99	100	100	0	100	100	99	100	99	84	100	0
Chromobacterium violaceum	87	1	99	100	0	0	100	0	100	0	98	10	97	0	100	75	0	100	38	0	97	0
Chryseobacterium indologenes	20	81	1	0	70	98	98	22	66	12	37	1	0	98	1	0	1	1	12	12	98	0
Chryseobacterium meningosepticum	0	83	1	0	5	98	96	93	98	1	89	70	70	81	0	0	1	0	25	0	99	0
Comamonas testosteroni/Ps.alcaligenes	76	0	0	6	4	0	4	1	11	3	3	4	1	2	42	66	38	87	32	3	98	0
Delfia acidovorans	98	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	78	0	0	99	71	89	99	28	83	100	0
Gimontella holisae	100	100	81	0	0	0	0	3	10	87	88	0	24	1	41	0	0	94	0	0	100	0
Moraxella haemolytica/Pasturella tehalis	85	0	2	0	0	2	0	85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85
Methylobacterium mesophilum	21	0	0	0	78	0	0	0	21	40	0	0	1	0	7	0	5	76	8	0	98	0
Moraxella lacunata	99	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	99	0
Moraxella spp	34	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	17	1	0	1	1	99	0
Myroides spp	0	1	0	0	84	1	99	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	100
Ochrobactrum anthropi	89	0	0	0	84	1	0	1	82	75	80	20	75	78	34	34	4	99	47	1	98	0
Oligella umolytica	71	0	0	0	99	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	95	95	28	98	0
Pasteurella aerogenes	100	0	97	0	100	0	0	100	98	76	87	1	80	98	87	0	0	95	0	0	77	0
Pasteurella multocida	98	98	1	0	0	0	10	1	0	2	1	1	2	1	0	1	0	1	0	0	88	0
Pasteurella pneumotropica	100	81	28	0	85	0	0	83	6	1	6	0	6	3	6	0	1	6	0	0	84	0
Pasteurella spp	98	1	2	2	1	1	1	4	19	1	1	1	1	1	1	0	1	13	1	0	87	0
Photobacterium damsela	98	0	84	99	99	2	0	11	11	0	6	0	1	6	0	0	0	83	0	0	100	0
Plesiomonas shigelloides	99	99	98	98	0	0	0	99	94	0	12	0	77	98	99	77	0	84	0	0	98	0
Pseudomonas aeruginosa	98	0	0	99	20	1	92	1	98	1	1	89	84	1	87	88	81	88	98	1	98	0
Pseudomonas fluorescens	27	0	0	99	1	1	38	1	99	71	87	89	85	1	99	99	10	99	99	15	99	0
Pseudomonas luteola	78	0	13	71	1	100	30	98	99	99	98	88	12	78	85	82	1	84	84	1	2	0
Pseudomonas mendocina	100	0	0	84	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	99	100	0	100	100	0	100	0
Pseudomonas oryzae/habitans	0	0	0	0	1	0	11	1	100	99	99	100	0	84	99	88	2	99	99	0	1	0
Pseudomonas putida	3	0	1	88	1	0	0	1	98	68	57	5	2	1	87	88	1	100	98	68	98	0
Pseudomonas stutzeri	94	0	0	1	1	0	1	0	98	1	10	87	0	76	87	87	1	99	85	1	100	0
Psychrobacter phenylpyruvicus	80	0	0	0	96	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	100	0
Ralstonia pickettii	32	0	1	1	3	0	1	0	98	36	1	10	14	0	99	88	82	99	88	15	99	0
Rhizobium radiobacter	88	0	0	0	85	88	1	98	100	100	100	100	99	99	90	2	0	100	0	1	98	0
Shewanella putrefaciens group	98	0	1	0	1	71	85	0	5	11	0	0	95	10	1	71	1	90	2	0	100	0
Sphingobacterium multivorum	0	0	1	0	95	100	1	99	98	81	88	0	98	98	0	0	0	1	0	0	98	0
Sphingobacterium spiritivorum	0	0	0	0	1	100	0	100	100	1	98	10	100	100	0	0	0	0	0	0	98	0
Sphingomonas paucimobilis	10	0	0	0	1	87	1	90	98	83	76	15	84	86	34	9	3	81	45	1	73	0
Stenotrophomonas maltophilia	37	1	0	0	0	99	99	87	84	3	85	2	98	99	2	1	0	99	98	0	7	0
Vibrio alginolyticus	88	88	88	0	0	85	81	10	78	1	18	76	57	74	78	1	0	99	1	0	98	0
Vibrio cholerae	99	100	99	0	0	1	99	99	88	0	90	78	76	87	88	1	0	98	87	1	100	0
Vibrio metschnikovi	0	60	84	0	0	7	100	60	100	0	71	99	99	99	17	0	98	60	0	0	0	0
Vibrio parahaemolyticus	99	99	100	1	6	1	98	97	90	81	82	99	51	98	90	0	1	98	21	1	99	0
Vibrio vulnificus	100	95	95	0	1	85	99	99	9	0	10	9	1	6	23	0	0	95	81	0	100	0
Wautersia paucula	1	0	0	0	23	0	1	0	1	1	0	1	0	1	89	88	88	98	14	88	0	0
Weeksella virosa/Empedobacter brevis	12	5	0	0	0	1	100	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	3	1	0	88	0

## **Annexe 3: Tableau des antibiotiques testés**

**Tableau 7 : Listes des antibiotiques testés avec objectif d'utilisation**

Objectif d'utilisation	famille	Sous famille	antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
						S	R	S	R
Détermination des Profils de résistance	Bêta-lactamines	PENICIL LINES	Ticarcilline	TIC	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 22	< 22
			Pipéracilline	PRL	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 18	< 18
			Pipéracilline/tazobactam	TZP	75/10 µg	≤ 16/4	> 16/4	≥ 19	< 19
		CARBAP ENEMES	Imipénème	IPM	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 22	< 17
			Doripénème	DOR	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
		MONOACTAME	Aztréonam	ATM	30 µg	≤ 1	> 16	≥ 27	< 19
		CEPHAL OSPORINES	Ceftazidime	CAZ	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19
		aminosides		Tobramycine	TOB	10 µg	≤ 4	> 4	≥ 16
			Amikacine	AN	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
			Gentamicine	CN	15µg10UI)	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16
			Nétilmicine	NET	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 19	< 19
résistance naturelle	aminosides		Kanamycine	K	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
	Bêta-lactamines	PENICIL LINES	Pénicilline novobiocine	PNV	40ug	> 8/2		16≤	≥17
		CEPHAL OSPORINES	céfotaxime	CTX					
		PENICIL LINES	Amoxicilline+Acide clavulanique	AMC	20/10 µg	≤ 4/2			
Sélection des résistants	LINCOSAMIDES		Lincomycine	L	10ug	≥ 21	< 16	17≤	≥21
	POLYPEPTIDES		Colistine	CT	50 µg	≤ 2	> 4		

**Remarque :** Selon SFM(2013) ; *Pseudomonas aeruginosa* a une résistance naturelle à : aminopénicillines, céphalosporines 1<sup>ere</sup> et 2<sup>eme</sup> génération, céfixime, céfuroxime, céfotaxime, ceftriaxone, ertapénème, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprime, quinolones

**Annexe 4:**

**Tableaux des résistances aux antibiotiques  
selon les années**

**Tableaux 11 :** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2011

2011	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM
S	76.81% (53/69)	95.71% (67/70)	72.85 (51/70)	80.00% (56/70)	11.42% (08/70)	97.14% (68/70)
R	11.59% (08/69)	04.28 % (03/70)	24.28% (17/70)	20.00% (14/70)	88.57 (62/70)	02.85% (02/70)
I	11.59 (08/69)	/	02.85% (02/70)	/	/	/

**Tableaux 12 :** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2012

2012	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM
S	78.30% (83/106)	97.11% (101/104)	72.64% (77/106)	81.13% (86/106)	09.43% (10/106)	96.22% (102/106)
R	07.54% (08/106)	02.88% (03/104)	22.64% (24/106)	18.86% (20/106)	90.56% (96/106)	03.77 (04/106)
I	14.15% (15/106)	/	04.71% (05/106)	/	/	/

**Tableaux 13:** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2013

2013	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM
S	75.55% (136/180)	96.66% (174/180)	74.30% (133/179)	79.44% (143/180)	09.44% (17/180)	96.66% (174/180)
R	11.66% (21/180)	03.33% (06/180)	22.34% (40/179)	20.55% (37/180)	90.55% (163/180)	03.33% (06/180)
I	12.77% (23/180)	/	03.35% (06/179)	/	/	/

Tableau 14: Résultats de l'antibiogramme des souches résistantes collectées en 2016

2016	AT M	PRL	CAZ	TIC	IPM	AM C	TZP	TIM	DOR	CTX	TOB	AK	CN	résistance
S2616	R	I	S	S	R	R	R		R	S	S	S	S	R de haut niveau aux B lactamines
S5416	R	/	I	S	S	R	S	R	/	R	S	S	S	R de haut niveau aux B lactamines
S5716		R	I	S	S	R	R	R	/	R	R	S	R	R de haut niveau aux B lactamines
S2010 16		/	S	S	S	R	/	R	/	R	S	S	S	R de haut niveau aux B lactamines
S2710 16		R	R	R	S	R	R	R	/	R	S	S	S	R de haut niveau aux B lactamines
S221116	/	//	S	/	R	R	/	/	/	R	R	S	R	Pénicilinase AQC+ ré car (impermeabilité)
S131216	/	/	I	R	R	R	/	R		R	S	S	S	R haut N + R Carbapénème (imper)

**Tableaux 15 :** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des aminosides de l'année 2011

2011	K	TOB	AK	CN
S	40% (28/70)	91.42% (64/70)	100% (70/70)	94.28% (66/70)
R	54.28% (38/70)	08.57% (06/70)	0	4.28% (03/70)
I	05.71% (04/70)	/	/	1.42% (01/70)

**Tableaux 16:** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des aminosides de l'année 2012

2012	K	TOB	AK	CN
S	27.88% (29/104)	90.56% (96/106)	100% (106)	91.42% (96/105)
R	65.38 (68/104)	09.43% (10/106)	00.00% (00/356)	5.71% (6/105)
I	06.73% (7/104)	/	/	2.85% (03/105)

**Tableaux 17:** Effectifs des profils de résistance des souches testées vis-à-vis des Bêta-lactamines de l'année 2013

2013	K	TOB	AK	CN
S	33.88% (61/180)	89.44% (161/180)	100%(180/180)	81.11% (146/180)
R	59.44% (107/180)	10.55% (19/180)	0	(08.88%) 16/180
I	06.66% (12/180)	/	0	10% (18/180)

Tableau 18: Résultats de l'antibiogramme des souches résistantes collectées en 2014

	TIM	TZP	CAZ	TIC	AMC	IPM	DOR	CTX	K	TOB	CN	AN	NET	PNV
114	I	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R
214	S	R	S	R	R	R	R	R	/	R	S	S	S	R
2214	R	S	S	S	R	I	S	I	R	R	R	S	S	R
314	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R
3314	I	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
514	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R
814	R	S	S	S	R	I	S	I	R	R	R	S	S	R
914	I	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
1014	R	S	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R	R
414	R	S	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R	R
614	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R
1114	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R
1214	S	R	S	R	R	R	R	R	R	/	S	S	S	R
1314	I	R	S	R	R	R	R	R	R	/	S	S	S	R
1414	/	I	S	S	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
1514	S	R		R	R	R	R	R	R	/	R	S	R	R
1614	R	R		R	R	R	R	R	R	/	S	S	S	R
21214	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R

**Annexe 5**

**Tableaux des phénotypes de résistance de *P.***

***aeruginosa***

**Tableau 20:** Phénotypes de résistance de *P. aeruginosa* aux  $\beta$ -lactamines (Fauchère, 1997)

ATB à étudier	Phénotype						
	1	2	3	4	5	6	7
TIC	S	R	R	R	R	S	R
PIP	S	R	S	R	R	S	R
CAZ	S	S	S	S	R	S	R
ATM	S	S	R	R	R	S	R
IMP	S	S	S	S	S	R	R
Mécanisme de résistance	Case natur inductible	Pase HN	Imperméabilité	Imperméabilité Pase HN	Case HN	Imperméabilité sélective OprD2	Impénèmase
Sensibilité	Carbox Uréido	CAZ ATM	Uréido	CAZ	IPM	Uréido	

**Tableau 21:** Phénotypes de résistance de *P. aeruginosa* aux aminosides (Fauchère, 1997)

antibiotique				Mécanisme de résistance
CN	TOB	NET	AK	
R	S	S	S	AAC(3)-I
R	R	S	S	AAC(3)-III
R	R	R	S	AAC(3)-IV-V
S	R	R	R	AAC(6')-I
R	R	R	S	AAC(6')-II
R	R	S	S	ANT(2'')
R	R	R	R	AAC(6')-I + ANT(2'') ou perméabilité

**Annexe 6:**  
**Antibiogramme des souches choisies pour la**  
**détermination des CMI et CMB**

**Tableau 23:** Antibiogramme des souches choisies en 2011 pour la détermination des CMI et CMB

Souche	Antibiotiques2011												
	βlactamines						Aminosides				Autres		
	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM	K	TOB	AN	CN	CT	L	PNV
S4211	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
S5411	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	R	R
S3511	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R
S15511	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
S7911	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R

**Tableau 26:** Antibiogramme des souches choisies en 2012 pour la détermination des CMI et CMB

Souches	Antibiotiques												
	βlactamines						Aminosides				Autres		
	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM	K	TOB	AN	CN	CT	L	PNV
S3112	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
S3212	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
S10312	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R
S1412	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
S11412	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	R	R
S2512	/	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R
S10512	I	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
S17512	I	R	R	R	R	R	R	R	S	I	S	R	R
S24512	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	R	R
S24512(2)	/	S	S	S	R	S	I	S	S	I	S	R	R
S3612	S	S	S	S	R	S	R	S	S	I	S	R	R
S13912	S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
S41012	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R

**Tableau 28** Antibiogramme des souches choisies en 2013 pour la détermination des CMI et CMB

Souche	Antibiotiques2013													
	βlactamines						Aminosides				Autres			
	ATM	PRL	CAZ	TIC	AMC	IPM	K	TOB	AN	CN		CT	L	PNV
S4113	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S5113	S	S	S	S	R	S	R	S	S	I		S	R	R
S14113	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S30313	I	S	R	R	R	R	R	R	S	R		S	R	R
S1413	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S1513	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S		S	R	R
S30113	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S13213	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S		S	R	R
S15213	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S		S	R	R
S5313	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S		S	R	R
S15313	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S		S	R	R
S19313	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S10413	I	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S16413	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S		S	R	R
S17413	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S		S	R	R
S13513	S	S	S	S	R	S	R	S	S	I		S	R	R
S14513	S	S	S	S	R	S	I	S	S	I		S	R	R
S16513	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R		S	R	R
S13613	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R		S	R	R
S15613	I	S	R	R	R	R	R	R	S	R		S	R	R
S191013	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R		S	R	R

