

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2012

THESE N°: 52

**INFECTIONS A PSEUDOMONAS AERUGINOSA :
ACTUALITEES**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mr. Abdelhakim ELYAJOURI

Né le 10 juin 1986 à Sidi Kacem

Médecin Interne du CHU Ibn Sina Rabat

De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: *Pseudomonas aeruginosa – Infection nosocomiale – Bactérie multirésistante.*

JURY

Mr. A. AGADR Professeur de Pédiatrie	PRESIDENT
Mme. S. EL HAMZAOU Professeur de Microbiologie	RAPPORTEUR
Mme. N. MESSAOUDI Professeur d'Hématologie Biologique	} JUGES
Mme. S. TELLAL Professeur de Biochimie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali*
12. Pr. BENOMAR M'hammed
13. Pr. BENSOUA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-ptisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek *
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain *
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-ptisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép. TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor*
43. Pr. YAHYA OUI Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-ptisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
45. Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
46. Pr. FAIK Mohamed	Urologie
47. Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
48. Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
50. Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
51. Pr. BENAMEUR Mohamed*	Radiologie
52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
53. Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
54. Pr. CHKOFF Rachid	Urologie
55. Pr. KHARBACH Aïcha	Gynécologie -Obstétrique
56. Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
58. Pr. SEDRATI Omar*	Dermatologie
59. Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
61. Pr. ATMANI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
62. Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
67. Pr. BENSOUUDA Yahia	Pharmacie galénique
68. Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
69. Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
70. Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
71. Pr. CHANA El Houssaine*	Ophtalmologie
72. Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
73. Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
74. Pr. FAJRI Ahmed*	Psychiatrie
75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
76. Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
77. Pr. NEJMI Maati	Anesthésie-Réanimation
78. Pr. OUAALINE Mohammed*	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH	Pharmacologie
80. Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

81. Décembre 1992

82. Pr. AHALLAT Mohamed
83. Pr. BENOUDA Amina
84. Pr. BENSOUDA Adil
85. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
86. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
87. Pr. CHRAIBI Chafiq
88. Pr. DAOUDI Rajae
89. Pr. DEHAYNI Mohamed*
90. Pr. EL HADDOURY Mohamed
91. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
92. Pr. FELLAT Rokaya
93. Pr. GHAFIR Driss*
94. Pr. JIDDANE Mohamed
95. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
96. Pr. TAGHY Ahmed
97. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Microbiologie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

98. Pr. AGNAOU Lahcen
99. Pr. AL BAROUDI Saad
100. Pr. BENCHERIFA Fatiha
101. Pr. BENJAAFAR Nouredine
102. Pr. BENJELLOUN Samir
103. Pr. BEN RAIS Nozha
104. Pr. CAOUI Malika
105. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
106. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
107. Pr. EL AOUAD Rajae
108. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
109. Pr. EL HASSANI My Rachid
110. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
111. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
112. Pr. ERROUGANI Abdelkader
113. Pr. ESSAKALI Malika
114. Pr. ETTAYEBI Fouad
115. Pr. HADRI Larbi*
116. Pr. HASSAM Badredine
117. Pr. IFRINE Lahssan
118. Pr. JELTHI Ahmed
119. Pr. MAHFOUD Mustapha
120. Pr. MOUDENE Ahmed*
121. Pr. OULBACHA Said
122. Pr. RHRAB Brahim
123. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
124. Pr. SLAOUI Anas

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire

125. Mars 1994

126. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
127. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
128. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
129. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
130. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
131. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
132. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
133. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
134. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
135. Pr. EL ABBADI Najia	Neurochirurgie
136. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
137. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
138. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
139. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

140. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
141. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
142. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
143. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
144. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*	Urologie
145. Pr. BENAZZOUZ Mustapha	Gastro-Entérologie
146. Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
147. Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
148. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation
149. Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale
150. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
151. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
152. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
153. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
154. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
155. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
156. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
157. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
158. Pr. RZIN Abdelkader*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
159. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
160. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

Décembre 1996

161. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
162. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
163. Pr. BELMAHI Amin	Chirurgie réparatrice et plastique
164. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
165. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale

166. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
167. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
168. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
169. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
170. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
171. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
172. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
173. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
174. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

175. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
176. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
177. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
178. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
179. Pr. BOULAICH Mohamed	O.RL.
180. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
181. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
182. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
183. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
184. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
185. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
186. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
187. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
188. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
189. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
190. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
191. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
192. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
193. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
194. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

195. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
196. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
197. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
198. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
199. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
200. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
201. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
202. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
203. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

204. Pr. BENKIRANE Majid*
205. Pr. KHATOURI ALI*
206. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

207. Pr. ABID Ahmed*
208. Pr. AIT OUMAR Hassan
209. Pr. BENCHERIF My Zahid
210. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
211. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
212. Pr. CHAOUI Zineb
213. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
214. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
215. Pr. EL FTOUH Mustapha
216. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
217. Pr. EL OTMANY Azzedine
218. Pr. GHANNAM Rachid
219. Pr. HAMMANI Lahcen
220. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
221. Pr. ISMAILI Hassane*
222. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
223. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
224. Pr. TACHINANTE Rajae
225. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

226. Pr. AIDI Saadia
227. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
228. Pr. AJANA Fatima Zohra
229. Pr. BENAMR Said
230. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
231. Pr. CHERTI Mohammed
232. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
233. Pr. EL HASSANI Amine
234. Pr. EL IDGHIRI Hassan
235. Pr. EL KHADER Khalid
236. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
237. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
238. Pr. HSSAIDA Rachid*
239. Pr. LACHKAR Azzouz
240. Pr. LAHLOU Abdou
241. Pr. MAFTAH Mohamed*
242. Pr. MAHASSINI Najat

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique

243. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
244. Pr. NASSIH Mohamed*
245. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

246. Pr. ABABOU Adil
247. Pr. AOUAD Aicha
248. Pr. BALKHI Hicham*
249. Pr. BELMEKKI Mohammed
250. Pr. BENABDELJLIL Maria
251. Pr. BENAMAR Loubna
252. Pr. BENAMOR Jouda
253. Pr. BENELBARHDADI Imane
254. Pr. BENNANI Rajae
255. Pr. BENOUACHANE Thami
256. Pr. BENYOUSSEF Khalil
257. Pr. BERRADA Rachid
258. Pr. BEZZA Ahmed*
259. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
260. Pr. BOUHOUCHE Rachida
261. Pr. BOUMDIN El Hassane*
262. Pr. CHAT Latifa
263. Pr. CHELLAOUI Mounia
264. Pr. DAALI Mustapha*
265. Pr. DRISSE Sidi Mourad*
266. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
267. Pr. EL HIJRI Ahmed
268. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
269. Pr. EL MADHI Tarik
270. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
271. Pr. EL OUNANI Mohamed
272. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
273. Pr. ETTAIR Said
274. Pr. GAZZAZ Miloudi*
275. Pr. GOURINDA Hassan
276. Pr. HRORA Abdelmalek
277. Pr. KABBAJ Saad
278. Pr. KABIRI EL Hassane*
279. Pr. LAMRANI Moulay Omar
280. Pr. LEKEHAL Brahim
281. Pr. MAHASSIN Fattouma*
282. Pr. MEDARHRI Jalil
283. Pr. MIKDAME Mohammed*
284. Pr. MOHSINE Raouf
285. Pr. NABIL Samira

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

286. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
287. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
288. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
289. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
290. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
291. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

Décembre 2002

292. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
293. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
294. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
295. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
296. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
297. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
298. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
299. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
300. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
301. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
302. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
303. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
304. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
305. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
306. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
307. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
308. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
309. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
310. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
311. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
312. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
313. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
314. Pr. IKEN Ali	Urologie
315. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
316. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
317. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
318. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
319. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
320. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
321. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
322. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
323. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
324. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
325. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
326. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
327. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
328. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie

329. Pr. SIAH Samir *
 330. Pr. THIMOU Amal
 331. Pr. ZENTAR Aziz*
 332. Pr. ZRARA Ibtisam*

Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

333. Pr. ABDELLAH El Hassan
 334. Pr. AMRANI Mariam
 335. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 336. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 337. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 338. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 339. Pr. BOULAADAS Malik
 340. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 341. Pr. CHAGAR Belkacem*
 342. Pr. CHERRADI Nadia
 343. Pr. EL FENNI Jamal*
 344. Pr. EL HANCI ZAKI
 345. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 346. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 347. Pr. HACHI Hafid
 348. Pr. JABOUIRIK Fatima
 349. Pr. KARMANE Abdelouahed
 350. Pr. KHABOUZE Samira
 351. Pr. KHARMAZ Mohamed
 352. Pr. LEZREK Mohammed*
 353. Pr. MOUGHIL Said
 354. Pr. NAOUMI Asmae*
 355. Pr. SAADI Nozha
 356. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 357. Pr. TARIB Abdelilah*
 358. Pr. TIJAMI Fouad
 359. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

360. Pr. ABBASSI Abdellah
 361. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 362. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 363. Pr. ALLALI Fadoua
 364. Pr. AMAR Yamama
 365. Pr. AMAZOUZI Abdellah
 366. Pr. AZIZ Nouredine*
 367. Pr. BAHIRI Rachid
 368. Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie

369. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
370. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
371. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
372. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
373. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
374. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
375. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
376. Pr. EL HAMZAoui Sakina	Microbiologie
377. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
378. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
379. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
380. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
381. Pr. KENDOSSI Mohamed*	Cardiologie
382. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
383. Pr. LYAGoubi Mohammed	Parasitologie
384. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
385. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
386. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
387. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
388. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique
<u>AVRIL 2006</u>	
423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Saïd*	Radiologie
426. Pr. BELGNAoui Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAoui Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique

447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
450. Pr. MANSOURI Hamid*
451. Pr. NAZIH Naoual
452. Pr. OUANASS Abderrazzak
453. Pr. SAFI Soumaya*
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
455. Pr. SEFIANI Sana
456. Pr. SOUALHI Mouna
457. Pr. TELLAL Saida*
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
462. Pr. BAITE Abdelouahed *
463. Pr. TOUATI Zakia
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
466. Pr. SELKANE Chakir *
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
469. Pr. EL ABSI Mohamed
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
473. Pr. GHARIB Nouredine
474. Pr. TABERKANET Mustafa *
475. Pr. ISMAILI Nadia
476. Pr. MASRAR Azlarab
477. Pr. RABHI Monsef *
478. Pr. MRABET Mustapha *
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
480. Pr. SEFFAR Myriame
481. Pr. LOUZI Lhousain *
482. Pr. MRANI Saad *
483. Pr. GANA Rachid
484. Pr. ICHOU Mohamed *
485. Pr. TACHFOUTI Samira
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
487. Pr. MELLAL Zakaria
488. Pr. AMMAR Haddou *
489. Pr. AOUI Sarra

Médecine Interne
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
O.R.L
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Anatomie Pathologique
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Anatomie pathologique
Anesthésie réanimation
Anesthésier réanimation
Anesthésie réanimation
Anesthésie réanimation
Cardiologie
Biochimie
Biochimie
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie plastique
Chirurgie vasculaire périphérique
Dermatologie
Hématologie biologique
Médecine interne
Médecine préventive santé publique et hygiène
Microbiologie
Microbiologie
Microbiologie
Virologie
Neuro chirurgie
Oncologie médicale
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
ORL
Parasitologie

490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie

Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. Pr. ABOUDRAR Saadia | Physiologie |
| 2. Pr. ALAMI OUHABI Naima | Biochimie |
| 3. Pr. ALAOUI KATIM | Pharmacologie |
| 4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma | Histologie-Embryologie |
| 5. Pr. ANSAR M'hammed | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| 6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz | Applications Pharmaceutiques |
| 7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed | Génétique Humaine |
| 8. Pr. BOURJOUANE Mohamed | Microbiologie |
| 9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia | Biochimie |
| 10. Pr. DAKKA Taoufiq | Physiologie |
| 11. Pr. DRAOUI Mustapha | Chimie Analytique |
| 12. Pr. EL GUESSABI Lahcen | Pharmacognosie |
| 13. Pr. ETTAIB Abdelkader | Zootéchnie |
| 14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes | Pharmacologie |
| 15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed | Chimie Organique |
| 16. Pr. IBRAHIMI Azeddine | |
| 17. Pr. KABBAJ Ouafae | Biochimie |
| 18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine | Biologie |
| 19. Pr. REDHA Ahlam | Biochimie |
| 20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med | Chimie Organique |
| 21. Pr. TOUATI Driss | Pharmacognosie |
| 22. Pr. ZAHIDI Ahmed | Pharmacologie |
| 23. Pr. ZELLOU Amina | Chimie Organique |

*** *Enseignants Militaires***



Dédicaces





A Allah
Tout puissant
Qui m'a inspiré
Qui m'a guidé dans le bon chemin
Je vous dois ce que je suis devenu
Louanges et remerciements
Pour votre clémence et miséricorde

A
La mémoire de Feu SA MAJESTÉ LE ROI

HASSAN II



Que Dieu ait son âme dans son Saint Paradis

A

SA MAJESTÉ LE ROI

MOHAMED VI



*Chef suprême et chef d'état major général
des forces armées royales.*

Que dieu le glorifie et préserve son royaume.

A

SON ALTESSE ROYALE LE PRINCE HÉRITIÉR

MOULAY EL HASSAN



Que dieu le garde.

A TOUTE LA FAMILLE ROYALE



A Monsieur le Médecin Général de Brigade

ALI ABROUQ :

Professeur d'oto-rhino-laryngologie.

Inspecteur du Service de Santé des Forces Armées Royales.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération.*

A Monsieur le Médecin Colonel Major

MOHAMMED HACHIM :

Professeur de médecine interne.

Directeur de l'HMIMV –Rabat.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

Monsieur le Médecin Colonel Major

KHALID LAZRAK :

Professeur de Traumatologie Orthopédie.

Directeur de L'Hôpital Militaire de Meknès.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération.*

A Monsieur le Médecin Colonel Major

MOHAMMED JANATI IDRISI :

Professeur de Chirurgie viscérale.

Directeur de L'Hôpital Militaire de Marrakech.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération.*

A Monsieur le Médecin Colonel Major

HDA ABDELHAMID:

Professeur de Cardiologie.

Directeur de l'E.R.S.S.M et de L'E.R.M.I.M.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération.*

A mes chers parents

qui m'ont encouragé et soutenu avec patience pendant mes longues années d'études, en témoignage de mon affection et reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard.

*A mes sœurs Imane et Mariamme
pour vos encouragements.*

*Que Dieu vous garde en bonne santé
avec réussite dans toute la vie.*

*A mon frère Omar
Merci pour ton aide inestimable.*

A la mémoire de mon grand père paternel

A mes grands parents



A ma chère fiancée

pour ta patience, ton soutien, ta compréhension et ton amour.

Que Dieu nous garde unis pour toujours.

*A mon meilleur ami Yassine Eljaouhari,
je ne saurais oublier ta compréhension et ton soutien.*

A tous les membres de ma famille petits et grands

*Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon
affection la plus sincère.*

A mes amis Abdelkarim,

*karim, Abdelhadi, Elyadari, Aniss, Souhail, Najim, Reda,
Mohammed, Achraf, Ismail, Aissa, Amine et Tarik,*

*A la mémoire de mon ami Eljaouhari Elghali,
je prie pour toi, que ton âme repose en paix...*

A tous ceux qui me sont chers

Je dédie ce travail



Remerciements



A Notre Maître et Président de Thèse
Monsieur le professeur : AGADR AOMAR
Professeur de Pédiatrie.

L'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde reconnaissance pour vos qualités humaines.

Veillez trouver ici, l'expression de notre grande estime.

*A Notre Maître et Rapporteur de Thèse
Madame le professeur : EL HAMZAOUI SAKINA
Professeur de MICROBIOLOGIE.*

Pour vos propositions judicieuses, inhérentes au choix du sujet de cette thèse.

Pour les efforts inlassables que vous avez déployés pour que ce travail soit élaboré.

Pour votre douceur, votre soutien indéfectible et votre compétence à toutes les étapes de ce travail. Veuillez accepter mes sincères remerciements de même que le témoignage de mon profond respect.

A Notre Maître et Juge de Thèse
Madame le professeur : TELLAÏ SAÏDA
Professeur de BIOCHIMIE.

Nous avons été touchés par la bienveillance et la cordialité de votre accueil.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

C'est pour nous l'occasion de vous témoigner estime et respect.

A Notre Maître Et Juge De Thèse

Madame le professeur : MESSAOUDI NEZHA

Professeur d'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Nous avons été touchés par la grande amabilité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans notre jury.

Cet honneur que vous nous faites est pour nous l'occasion de vous témoigner respect et considération.

Soyez assuré de nos remerciements sincères.

Liste des abréviations

Ab	: Acinetobacter baumannii.
AK	: Amikacine
BLSE	: Béta-lactamases à spectre étendu.
BMR	: Bactéries multirésistantes.
C1G	: Céphalosporine de première génération.
C2G	: Céphalosporine de deuxième génération.
C3G	: Céphalosporine de troisième génération.
C4G	: Céphalosporine de quatrième génération.
CAZ	: Ceftazidime.
CIP	: Ciprofloxacine
CMI	: Concentration minimale inhibitrice.
CS	: Colistine
DCL	: Gélose désoxycholate lactose
DO	: Doxycycline
ECP	: Electrophorèse en champ pulsé
GM	: Gentamicyne.
HSR	: Hôpital des spécialités de rabat.
IPM	: Imipénème.
MβL	: Métallo-β-lactamases.
NNIS	: National Nosocomial Infections Surveillance System
P.a	: Pseudomonas aeruginosa.
PIP	: Pipéracilline.
QS	: Quorum sensing
TIC	: Ticarcilline
TM	: Tobramycine

Sommaire

I. Introduction	1
II. Historique.....	2
III. Epidémiologie	3
III-1 L'agent pathogène.....	3
1.1 Caractéristique générale.....	3
1.2. Description	4
1.3. Caractères structuraux	5
1.4. Génome	6
1.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et résistance aux antibiotique	7
1.5.1. Résistance naturelle.....	8
1.5.2. Résistance acquise.....	11
1.5.3. Mécanismes de résistance par famille d'antibiotiques	12
1.5.3.1. β -lactamines.....	12
1.5.3.2. Aminosides	18
1.5.3.3. Fluoroquinolones	20
1.5.3.4. Colistine	20
1.5.4. En pratique au laboratoire	21
1.5.5. Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	29
1.6. Résistance aux antiseptiques et désinfectants.....	37
1.7. Facteurs de risque d'acquisition de résistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
1.7.1. Un inoculum bactérien important	38
1.7.2. Une exposition antérieure à des antibiotiques naturellement actifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
1.7.3. Un traitement par monothérapie anti-pyocyanique	39
1.7.4. La présence d'un matériel étranger	39
1.7.5. Une procédure invasive récente	40
1.7.6. Une hospitalisation	40
1.7.7. Certains sites infectieux	40
1.8. Epidémiologie de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
1.8.1. Maroc	40
1.8.2. Etats-Unis	43
1.8.3. Europe	44
1.9. Impact de la multirésistance sur la morbidité et la mortalité des patients infectés	46
1.10 Pouvoir pathogène de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
1.10.1 Facteurs de virulence membranaire.....	47
A- Flagelle	48
B- Pili polaires	48
C- Lipopolysaccharides	49
D- Exopolysaccharides	50
E- La protéine OprF.....	50
1.10.2 Facteurs de virulence enzymatiques.....	51
A- Exoenzymes à travers le système de sécrétion de type III	51
B- Enzymes protéolytiques	52
C- Enzymes lipolytiques	53
D- Pyocyanine	54
E- Pyoverdine.....	54

1.10.3 Biofilm	55
A- Définition	55
B- Formation du biofilm	56
1.11 Régulation de l'expression des facteurs de virulence ou « Quorum sensing »	58
1.12 Diagnostic biologique	60
A. Prélèvements	60
B. Culture.....	60
C. Caractères biochimiques.....	61
D. Sérotypage.....	62
E. Sérodiagnostic	63
F. Réalisation d'antibiogramme	64
1.13 Stratégies thérapeutiques dans les infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	68
1.13.1 Spectre de molécules disponibles	68
1.13.2. Stratégie probabiliste éléments de réflexion.....	69
1.13.3. Composition de la bithérapie.....	69
1.13.3.1. Choix de l'aminoside	70
1.13.3.2. Choix de la bêtalactamine	70
1.13.4. Modalités d'administration.....	71
1.13.4.1. Modalités d'administration de l'aminoside.....	71
1.13.4.2. Modalités d'administration de la ciprofloxacine.....	72
1.13.4.3. Modalités d'administration de la bêtalactamine	72
1.13.5. Modification de l'antibiothérapie après documentation bactériologique	73
1.13.6. Problèmes particuliers posés par les souches multirésistantes	74
1.13.6.1. Aérosols d'antibiotiques.....	74
1.13.6.2. Colimycine parentérale.....	74
1.13.7. Durée du traitement.....	75
1.13.7. Traitements spécifiques	75
A. Traitement local.....	75
B. Traitements spécifiques et antibiothérapie par voie générale.....	77
III-2 Réservoir et transmission	81
III-3 Réceptivité	82
III-4 Facteurs favorisant l'infection à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	86
4.1 Facteurs environnementaux.....	86
4.2 Populations à risques	87
III-5 Aspects épidémiologiques	88
III-6 Répartition géographique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	90
IV. Développement d'immunothérapies	90
V. Infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91
V.1 Éléments de physiopathologie.....	92
A. Colonisation et infection	92
B. Développement de l'infection.....	93
C. Cas particulier de la mucoviscidose et des pneumopathies chroniques.....	94
D. Cas particulier du brûlé.....	95
V. 2 Aspects cliniques	96
A. Infections communautaires.....	96
A.1 Patients immunocompétents.....	96
A.2 Patients immunodéprimés	98
A.3 Autres terrains particuliers.....	100
B. Infection nosocomiales	102

B.1 En réanimation et unités de soins intensifs.....	103
B.2 Dans les centres de brûlés	106
B. 3 Dans les autres services hospitaliers	107
VI. Gestion d'une épidémie d'infections à Pseudomonas aeruginosa	108
VI.1 Difficulté de l'investigation	108
VI.2 Diagnostic positif	109
VI.3 Enquête et contrôle de l'épidémie	110
VII. L'apport des différents outils moléculaires dans l'épidémiologie de	
Pseudomonas aeruginosa	111
VII.1 Électrophorèse en champ pulsé	111
VII.2. Multilocus sequence typing (MLST)	111
VIII. Hygiène et prévention.....	113
VIII.1. Avant l'infection	113
VIII.2. INFECTION IDENTIFIÉE	114
IX- Conclusion	115
Résumé.....	117
Bibliographie.....	120

Liste des tableaux

Tableau 1 Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
Tableau 2 Principaux phénotypes de résistance aux B-lactamines en France	13
Tableau 3 Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> conditions techniques générales du CA-SFM pour la méthode de diffusion en milieu gélosé ou pour la détermination des CMI par la méthode de dilution en gélose	23
Tableau 4 Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Antibiotiques à tester selon les recommandations du CA-SFM avec leurs concentrations et diamètres critiques.....	24
Tableau 5 limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 76110 (ATCC 27 853) proposées par la CA-SFM	26
Tableau 6 Evolution de la sensibilité (%) aux ATB de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans plusieurs études multicentriques entre 1995 et 2004	31
Tableau 7 Evolution (%) de la distribution des mécanismes de résistance aux B –lactamines parmi les isolats de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans 15 centres hospitalo-universitaires entre 1997 et 2004	32
Tableau 8 Sensibilité (%) de <i>P. aeruginosa</i> aux ATB en fonction des groupes de services.....	33
Tableau 9 Evolution de la sensibilité aux ATB (%) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés d'hémocultures données issues de 3 réseaux français fédérés par l'ONERBA, dans le cadre de l'EARSS.....	36
Tableau 10 Taux de résistance à l'IPM et pourcentage des souches productrices de métalloenzymes.....	43
Tableau 11 Principaux facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
Tableau 12 Antibiotiques à inclure dans un antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ..	64
Tableau 13 Récapitulatif des phénotypes de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux bêta-lactamines	65
Tableau 14 Maladies causées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et populations à risques associées	88
Tableau 15 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les infections nosocomiales.....	102

Liste des figures

Figure 1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique	4
Figure 2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique	5
Figure 3 Représentation circulaire du génome de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Figure 4 Phénotypes de résistance les plus souvent rencontrés dans un laboratoire de biologie médicale	10
Figure 5 Image de synergie signifiant la présence d'une BLSE de classe A.....	13
Figure 6 Image de synergie entre l'imipenème et l'EDTA, signifiant la présence d'une métallo-B-lactamase.....	13
Figure 7 Mécanismes de résistance aux B-lactamines, proposition de protocole pour recherche de synergie chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
Figure 8 Carte issue de l'European Antimicrobial Résistance Surveillance System (EARSS) représentant les taux de résistance à la céftazidime chez les souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées d'hémocultures.....	34
Figure 9 Carte issue de l'EARSS représentant les taux de résistance à la ciprofloxacine chez les souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées d'hémocultures.....	35
Figure 10 Répartition des souches de <i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i> selon les prélèvements.....	42
Figure 11 Proportion des résistance aux à pipéracilline de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les pays de l'union européen en 2008,	44
Figure 12 Proportion des résistance à céftazidime de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les pays de l'union européen en 2008,.....	44
Figure 13 Proportion des résistance aux fluoroquinolones de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les pays de l'union européen en 2008	45
Figure 14 Proportion des résistance aux aminoglycosides de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les pays de l'union européen en 2008	45
Figure 15 Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Figure 16 Structure d'un flagelle bactérien	48
Figure 17 Structure de pilus de type IV de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Figure 18 Structure du lipopolysaccharide	50
Figure 19 Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et visualisation par microscopie à transmission 1 adhésion réversible, 2 adhésion irréversible/formation de micro-colonies, 3 et 4 maturation, 5 déta.....	58
Figure 20 Mécanisme de régulation de la densité bactérienne QS	59
Figure 21 Aspect des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
Figure 22 Surexpression de la céphalosporinase chromosomique AmpC, suite à la mutation du répresseur ampD chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
Figure 23 Répartitions de différentes lignées de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en Europe	113

I. Introduction

Depuis ces premières descriptions, *Pseudomonas aeruginosa* a pris une place considérable en pathologie humaine. Cette bactérie est avant tout un saprophyte de l'environnement hydrique, elle occupe maintenant une place majeure dans les établissements de santé, responsable de 10 à 15 % des infections nosocomiales. Le taux global de résistance semble stable, mais l'émergence de souches toto-résistantes est un phénomène nouveau et inquiétant aboutissant rapidement à des impasses thérapeutiques.

Le suivi de la dissémination de ces souches bénéficie d'outils d'épidémiologie moléculaire de plus en plus performants et faciles à mettre en œuvre. L'électrophorèse en champ pulsé et le multi locus sequence typing sont encore les méthodes de référence, mais, à l'instar de nombreuses autres bactéries, la technique du multi locus VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*) analysis s'imposera probablement à court et moyen terme.

Le suivi de l'évolution des résistances présente dans ce contexte une importance majeure. Il passe avant tout par un recueil des données sur les résistances le plus fiable possible et donc une bonne connaissance de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*, tant dans sa réalisation que dans son interprétation.

Pseudomonas aeruginosa, résistant naturellement à de nombreux antibiotiques, marqué par des résistances acquises parfois majeures, possède par ailleurs un arsenal de facteurs de virulence complexe fait de facteurs solubles et d'attributs cellulaires.

Ainsi *Pseudomonas aeruginosa* est l'archétype d'une bactérie environnementale devenue un pathogène opportuniste, et un véritable problème de santé publique dans les établissements de soins. À des résistances naturelles et des facteurs de virulence, souvent facteurs d'adaptation à l'environnement, se sont additionnées des résistances acquises sous la pression de sélection des antibiotiques conduisant à l'apparition de souches toto-résistantes qu'il faut savoir identifier et suivre sur le plan épidémiologique.

- **Les objectifs de ce travail sont**

- ▲ Clarifier les caractéristiques de *Pseudomonas aëruginosa*
- ▲ Etudier le comportement de *Pseudomonas aëruginosa* vis à vis des antibiotiques.
- ▲ Déterminer la difficulté de traitement des infections à *Pseudomonas aëruginosa*.

II. Historique

La bactérie fut découverte par Carle GESSARD (1850-1925), un jeune pharmacien parisien suivait ses recherches sur les bacilles pathogènes. Quelques-uns avaient été isolés, mais nombre d'entre eux gardaient encore leur secret. La coloration azurée que revêtaient certaines plaies purulentes intriguait particulièrement GESSARD, il en chercha la cause. De milieux de culture en milieux de culture, GESSARD réussit à isoler le coupable, responsable de l'infection en 1882.

Au début du vingtième siècle, de nombreux chercheurs s'intéressèrent à l'antagonisme bactérien. Emmerich et Loew identifièrent en 1899 la première substance chimique douée d'activité antibiotique, la pyocyanase, produite par *Pseudomonas aëruginosa*, le bacille pyocyanique. C'est une enzyme protéolytique capable de détruire notamment le vibron cholérique et le bacille diphtérique. Des essais thérapeutiques fondés sur l'antagonisme bactérien furent alors mis en œuvre, comme à l'Institut Pasteur dès 1904. En 1927, plusieurs centaines d'exemples d'antibiose avaient été observés et ils conduisirent au développement d'une centaine d'essais thérapeutiques. Non seulement ils n'eurent aucun succès, mais ils provoquèrent en outre de nombreux accidents, souvent mortels.

Pseudomonas aëruginosa fut l'agent responsable des surinfections des plaies au cours de la 1^{ère} guerre mondiale, les soldats montrèrent de pus bleu au niveau de leurs plaies.

Le développement de l'hospitalisation et des explorations invasives dans les années 60-70, connut de graves répercussions par la présence du germe sur les patients hospitalisés.

À la fin du 20ème siècle, quelques antibiotiques ne réussissaient plus à vaincre certaines bactéries. Il existe maintenant des souches de *Pseudomonas aëruginosa* qui résistent à tous les agents antibactériens connus.

III. Epidémiologie

Le bacille pyocyanique est une bactérie de l'environnement mais peut être commensal du tube digestif. Pour les sujets en bonne santé, *Pseudomonas aeruginosa* est peu présent, avec seulement 2 à 10 % de porteurs tandis que chez les sujets hospitalisés ce taux peut atteindre 50 %, voire 60 % sur les plaies de brûlures ou d'escarres.

III-1 L'agent pathogène

1.1 Caractéristique générale

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Pseudomonadaceae qui inclut dix genres *Azomonas*, *Azomonotrichon*, *Azorhizophilus*, *Azotobacter*, *Cellvibrio*, *Mesophilobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobacter*, *Rugamonas*, et *Serpens*.

Le genre *Pseudomonas* regroupe plus de 140 espèces dont les principales sont

Pseudomonas aeruginosa (espèce type), *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*,

Pseudomonas stutzeri, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Pseudomonas mallei*, *Pseudomonas pickettii*, *Pseudomonas solanacearum*, *Comamonas acidovorans*, *Comamonas testosteroni*,

Pseudomonas diminuta, *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas mesophilica*, *Pseudomonas nautica*.

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce type du genre *Pseudomonas*. Sa taxonomie est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa*

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae

Genre	Pseudomonas
Espèce	aeruginosa

1.2. Description [1]

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 μm de long et de 0,5 à 1 μm de large (**Figure 1**). Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie mobile 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. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. La morphologie de *Pseudomonas aeruginosa*, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique.



Figure 1 *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique [2]

1.3. Caractères structuraux [3]

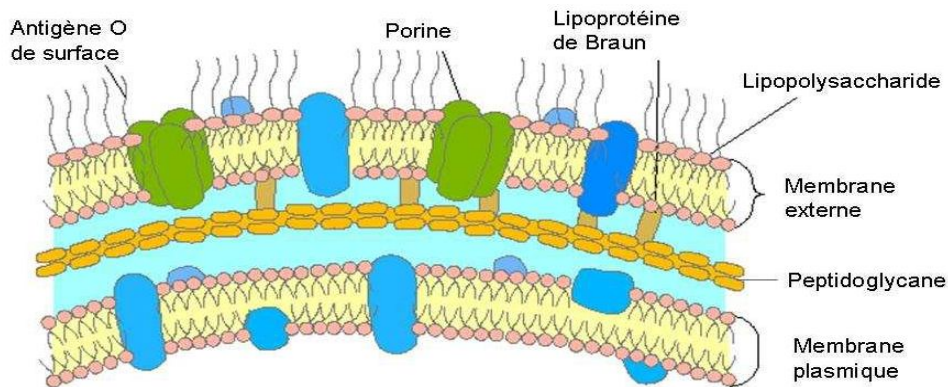


Figure 2 *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique [2]

La paroi de *Pseudomonas aeruginosa* est caractéristique de la paroi des bactéries à Gram négatif, composée d'une grande variété de molécules aux fonctions multiples (Figure 2). Elle est constituée de deux membranes séparées par le périplasme :

La membrane externe où sont localisés le lipopolysaccharide (LPS) et les porines et d'un espace périplasmique contenant le peptidoglycane.

La membrane plasmique mesure 2 à 3 nanomètres d'épaisseur. Elle contient de nombreux complexes protéiques s'ouvrant dans l'espace périplasmique, qui est une couche fine adjacente à la membrane plasmique et ne constitue que 5 à 10% du poids de la paroi, et sont d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien. L'espace périplasmique est un espace de stockage d'enzymes et de nutriments qui participe également à la synthèse des protéines. Les molécules de la membrane externe sont disposées en une bicouche épaisse d'environ 7 à 8 nanomètres, de structure semblable à celle de la membrane plasmique. La protéine la plus abondante est la lipoprotéine de Braun, une petite lipoprotéine attachée par liaison covalente au peptidoglycane sous-jacent et enfouie dans la membrane externe par son extrémité hydrophobe. La membrane externe est formée de LPS et de phospholipides, où s'insèrent de nombreuses protéines intrinsèques. Parmi elles, les porines, protéines transmembranaires formant des pores ou canaux protéiques permettant le passage de solutés et de molécules hydrophiles.

1.4. Génome [5]

Le génome de *Pseudomonas aeruginosa* (figure 3) est le plus grand génome bactérien jamais séquencé. Le chromosome bactérien comprend 6,3 millions de paires de bases, codant pour 5570 gènes, dont la fonction est soit connue avec certitude, soit supposée par comparaison des séquences avec des génomes d'autres espèces bactériennes, soit inconnue. Soixante-dix à 90% des gènes sont spécifiques de l'espèce, et 10% à 30% sont spécifiques du clone bactérien. Le génome chromosomique code notamment pour la plupart des facteurs de pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa*, et pour les multiples protéines conférant la résistance aux différentes classes d'antibiotiques.

La proportion de gènes de régulation est la plus importante de tous les génomes bactériens séquencés connus. Outre le chromosome bactérien, *Pseudomonas aeruginosa* possède de nombreux plasmides transférables par conjugaison ou par transduction.

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

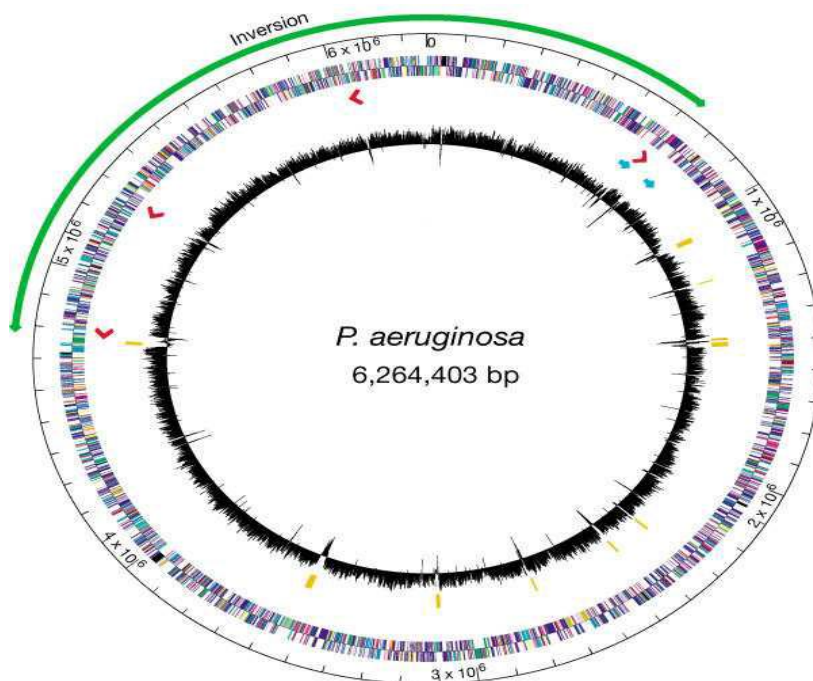


Figure 3 Représentation circulaire du génome de *Pseudomonas aeruginosa* (Stover C.K et al, 2000)

1.5. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotique [6]

Pseudomonas aeruginosa est impliqué dans 10 % des infections nosocomiales en France et plus rarement dans des infections communautaires cutanées, ophtalmiques, Oto-Rhino-Laryngologiques ou respiratoires (chez les patients atteints de mucoviscidose ou de bronchopneumopathie chronique obstructive). Cette bactérie opportuniste est caractérisée par son fort potentiel d'adaptation au milieu environnant et par sa rapidité d'acquisition de résistances aux antibiotiques.

Pseudomonas aeruginosa présente un niveau élevé de résistance naturelle aux antibiotiques. Ainsi, les molécules habituellement actives sur cette bactérie sont de nombre limité et sont représentées par certaines β -lactamines (pipéracilline et ticarcilline, avec ou sans inhibiteur, ceftazidime, céfépime, aztréonam, imipénème, méropénème, doripénème), les fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine), les aminosides (sauf la kanamycine), la fosfomycine et la colimycine. Les résistances acquises pour ces antibiotiques sont cependant très fréquentes, résultant de l'accumulation de mécanismes de résistance liés à des mutations chromosomiques et à l'acquisition de gènes transférables.

La surveillance épidémiologique des résistances aux antibiotiques montre, ces dix dernières années en France [6], une stabilité de la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques. Pourtant, ces chiffres globaux reflètent peu la problématique des souches multirésistantes, c'est-à-dire présentant des résistances associées à au moins 3 classes d'antibiotiques. Il existe dans notre pays un fond significatif, de l'ordre de 5 à 10 % de souches multirésistantes, voire toto-résistantes, pour lesquelles la colimycine reste souvent la seule molécule active, compliquant ainsi la prise en charge thérapeutique des patients infectés. On observe également l'émergence progressive de souches multi-résistantes produisant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE), des oxacillinases à large spectre (ES-OXA) ou des métallos-carbapénémases (MBL), à l'origine de petites épidémies. Cette constatation doit entraîner une vigilance extrême du biologiste au moment de la lecture de l'antibiogramme, afin de mettre en route des tests complémentaires ou à défaut, de confier la souche à un centre de référence. La difficulté de détection de ces souches est un élément contribuant à leur dissémination.

1.5.1. Résistance naturelle

Outre un arsenal assez impressionnant de facteurs de virulence, *Pseudomonas aeruginosa* possède naturellement les mécanismes lui permettant de résister à de nombreux antibiotiques.

Cette caractéristique explique en grande partie son succès à l'hôpital où la pression de sélection est forte. La résistance intrinsèque du bacille pyocyanique résulte de l'action combinée de plusieurs mécanismes, potentialisés par la très faible perméabilité de la membrane externe (10 à 100 fois moins que chez *E. coli*). En effet, en limitant la vitesse de pénétration intracellulaire des antibiotiques, cette membrane favorise l'action d'enzymes hydrolytiques ou modificatrices, ou de systèmes d'efflux.

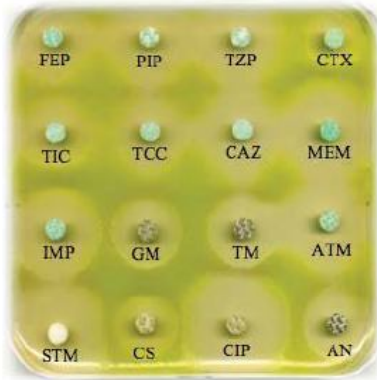
Contrairement à des espèces proches comme *P. fluorescens* et *P. putida*, le bacille pyocyanique est naturellement résistant à plusieurs aminosides dont la kanamycine en raison de la production d'une phosphotransférase APH(3')-IIb (figure 4C). Cette caractéristique peut être utile dans l'identification des *Pseudomonas fluorescens*. Par ailleurs, presque toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisent une β -lactamase à large spectre, dénommée AmpC, dont l'expression est induite par certaines β -lactamines.

Cette enzyme appartient à la classe C d' Ambler. Elle hydrolyse rapidement les aminopénicillines (amoxicilline et ampicilline), les céphalosporines de première (C1G) et de deuxième (C2G) génération, mais affecte peu, lorsqu'elle est produite à un niveau basal, la ticarcilline (carboxypénicilline), la pipéracilline (uréidopénicilline), les céphalosporines de troisième génération (C3G) telles que la ceftazidime et le céfépime ou les carbapénèmes (imipénème, méropénème et doripénème). En revanche, par un mécanisme encore mal compris, l'enzyme AmpC est capable de « neutraliser » le céfotaxime et la ceftriaxone, conférant ainsi au bacille pyocyanique une résistance naturelle de bas niveau à ces antibiotiques largement utilisés en milieu hospitalier (figure 4A).

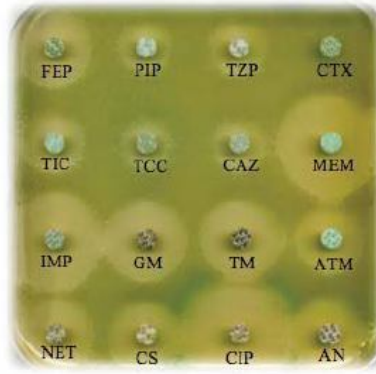
Ce phénomène de « neutralisation » explique aussi les images d'antagonisme que l'on peut voir sur un antibiogramme par diffusion lorsqu'un disque de carbapénème est situé au voisinage d'un disque de ceftazidime, de pipéracilline ou de ticarcilline. La β -lactamase, dont la production est fortement induite par le carbapénème, parvient à réduire l'activité de ces trois molécules malgré leur assez bonne résistance à l'hydrolyse. Il faut noter qu'une autre β -lactamase naturelle appartenant à la classe D d'Ambler, appelée OXA-50 ou PoxB, a également été identifiée chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Toutefois, son rôle dans la résistance naturelle de la bactérie aux β -lactamines reste assez marginal compte tenu de sa faible activité et de son spectre restreint. *Pseudomonas aeruginosa* est capable de produire pas moins de douze systèmes d'efflux actif différents appartenant à la famille RND (Resistance Nodulation cell Division).

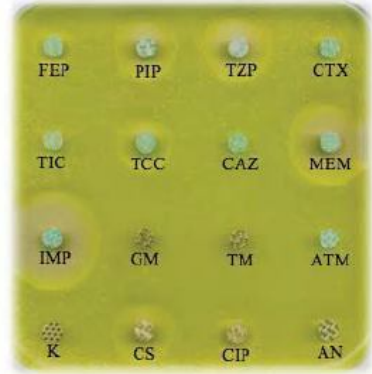
Toutefois, seuls deux de ces systèmes appelés Mex (Multiple efflux) contribuent réellement à la résistance naturelle aux antibiotiques. Les niveaux de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux β lactamines, aux aminosides, aux (fluoro) quinolones, aux tétracyclines, aux sulfamides, aux macrolides, au triméthoprimé et au chloramphénicol dépendent en grande partie de la production constitutive (permanente) d'une pompe dénommée MexAB-OprM (association des protéines MexA + MexB + OprM) et de la production inductible (déclenchée par la présence d'antibiotique) d'une autre pompe appelée MexXY/OprM. Ces systèmes fonctionnent grâce à l'énergie de la membrane cytoplasmique en couplant l'efflux de leurs substrats à l'entrée de protons. La résistance naturelle de *Pseudomonas aeruginosa* résulte donc de la superposition complexe de plusieurs processus qui tendent, soit à inactiver les antibiotiques, soit à les empêcher d'atteindre leur cible intracellulaire.



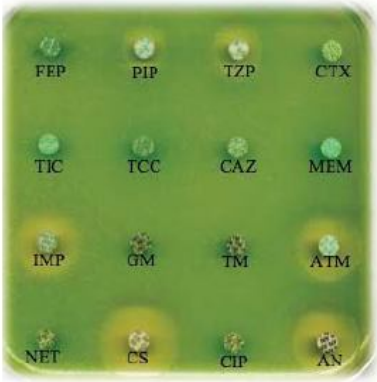
A. Phénotype sauvage.



B. Phénotype hyperproduction de la céphalosporinase AmpC.



C. Phénotype β-lactamase à spectre élargi (PER-1).



D. Phénotype carbapénémase (IMP-1).



E. Phénotype perte de porine OprD.



F. Phénotype hyperproduction du système d'efflux MexAB-OprM.



G. Phénotype hyperproduction du système d'efflux MexXY/OprM.

FEP, céfépime	GM, gentamicine
PIP, pipéracilline	TM, tobramycine
TZP, pipéracilline/tazobactam	ATM, aztréonam
CTX, céfotaxime	K, kanamycine
TIC, ticarcilline	CS, colistine
TCC, ticarcilline/acide clavulanique	CIP, ciprofloxacine
CAZ, ceftazidime	AN, amikacine
MEM, méropénème	STM, streptomycine
IMP, imipénème	NET, nétilmycine

Figure 4 Phénotypes de résistance les plus souvent rencontrés dans un laboratoire de biologie médicale

1.5.2. Résistance acquise

Le bacille pyocyanique peut utiliser tout un ensemble de mécanismes pour échapper à l'action des antibiotiques auxquels il est habituellement sensible. Certains mécanismes qualifiés d'intrinsèques (propres à l'espèce) apparaissent sous l'effet de mutations spontanées. Ainsi, certains mutants sont capables de surproduire (20 à 500 fois) la céphalosporinase naturelle AmpC, certains de surproduire un ou plusieurs systèmes d'efflux Mex, tandis que d'autres présentent une perméabilité membranaire réduite par altération d'une porine (principalement l'OprD) ou encore synthétisent des cibles cellulaires ayant perdu toute affinité pour les antibiotiques (cas des fluoroquinolones). Ces mutations qui surviennent à des fréquences allant de 10^{-5} , pour les plus fréquentes, à 10^{-9} , pour les plus rares, confèrent une résistance dite « stable » qui, selon le mécanisme en cause, concerne un nombre plus ou moins important d'antibiotiques antipyocyaniques, à des degrés divers. L'émergence de mutants résistants sous traitement est fréquemment constatée dans les infections à *Pseudomonas aeruginosa*.

Parfois, l'expression de ces mécanismes ne dépend pas de mutations mais s'intègre dans un phénomène adaptatif, complexe et transitoire, conditionné par un mode de vie particulier comme le biofilm. La formation de communautés bactériennes denses (biofilm) modifie en effet, le comportement individuel des cellules, les rendant souvent beaucoup plus résistantes aux antibiotiques qu'elles ne le sont à l'état isolé (planctonique). Ce phénomène, difficilement identifiable sur un antibiogramme standard en raison de son caractère fugace, serait à l'origine de mauvaises réponses thérapeutiques, notamment aux aminosides, chez les patients atteints de mucoviscidose.

Par ailleurs, l'apparition de nouvelles résistances chez *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment liée à l'acquisition de matériel génétique étranger (plasmide, transposon et intégron) récupéré d'autres bactéries à Gram négatif voire à Gram positif (gènes codant des méthylases de l'ARN 16S).

Seul un petit nombre de plasmides de résistance habituellement hébergés par les entérobactéries peut se répliquer chez le bacille pyocyanique. Les autres sont rapidement perdus au cours de la multiplication bactérienne.

Toutefois, les transposons présents sur la plupart de ces plasmides ne sont pas éliminés pour autant car leur capacité à s'intégrer rapidement dans les génomes assure leur maintien dans cette espèce ainsi que celui des gènes de résistance qu'ils véhiculent. Enfin, les plasmides comme les transposons peuvent porter des structures génétiques, appelées intégrons, capables de capturer les gènes de résistance les plus divers et conférer, de ce fait, une résistance à de nombreux antibiotiques, notamment aux β -lactamines et aux aminosides.

Les souches transmissibles ayant infecté de nombreux patients et donc subi de multiples traitements finissent par accumuler toute une variété de mécanismes endogènes et exogènes les rendant résistantes à pratiquement tous les antibiotiques.

1.5.3. Mécanismes de résistance par famille d'antibiotiques

1.5.3.1. β -lactamines

a. Résistance enzymatique

Depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique dans les années 40, un grand nombre de β -lactamines incluant des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes ont été développées. Les bactéries se sont progressivement adaptées à ces inhibiteurs par différents mécanismes, notamment la production d'enzymes, appelées β lactamases, capables d'hydrolyser le cycle β -lactame nécessaire à leur activité antibactérienne. Les premières avaient un spectre restreint alors que les plus récentes peuvent inactiver les β -lactamines utilisées à l'hôpital telles que les C3G et/ou les carbapénèmes. La séquence en acides aminés des enzymes permet leur classification en 4 groupes (A, B, C et D) selon Ambler. Les enzymes des classes A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif tandis que les enzymes appartenant à la classe B requièrent un cation divalent, en général le zinc comme cofacteur, d'où leur nom de métalloenzymes.

Plus de 800 β -lactamases ont été décrites chez les bacilles à Gram négatif et au moins 120 ont été retrouvées chez des isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*. L'enzyme AmpC, les BLSEs (β -lactamases à spectre élargi) et les MBLs (métallo- β -lactamases) ont un impact thérapeutique majeur chez cette espèce.

Tableau 2 Principaux phénotypes de résistance aux B-lactamines en France

Mécanisme	TIC	TCC	PIP	TZP	CAZ	FEP	AZM	IMP	MEM
β-lactamases									
Pénicilline (PSE-1)	R ⁽¹⁾	R	R	R	S	S/R	S	S	S
Oxacilline à spectre restreint (OXA-2, OXA-10, OXA-35)	R	R	S/R	S	S	S/R	S	S	S
Céphalosporine hyperproduite	R	R	R	s/R	s/R	S/R	s/I/R	S	S
β-lactamase à spectre étendu classe A (PER, VEB, GES)	R	s/R	S/R	S/R	R	R	s/I/R	S	S
β-lactamase à spectre étendu classe D (OXA-19, OXA-28)	R	R	S/R	S/R	R	S/R	S/I	S	S
Métallo-β-lactamase (IMP, VIM)	R	R	s/R	s/R	R	R	S/I	I/R	I/R
Imperméabilité, efflux actif									
MexAB-OprM ⁺⁺ (2)	R	R	S	S	S	S	I/R	S	S
MexCD-OprJ ⁺⁺	S	S	S	S	S	S/R	S	S	S
MexEF-OprN ⁺⁺	S	S	S	S	S	S	S	S/I	S
MexXY/OprM ⁺⁺	S	S	S	S	S	S/R	S	S/I	S
Altération de la porine OprD	S	S	S	S	S	S	S	I/R	s/I/R

Acronymes: **TIC**, ticarcilline; **TCC**, ticarcilline + acide clavulanique; **PIP**, pipéracilline; **TZP**, pipéracilline + tazobactam; **CAZ**, ceftazidime; **FEP**, céfépime; **AZM**, aztréonam; **IMP**, imipénème; **MEM**, méropénème.
 (1) Classification S, I, R selon les recommandations 2011 du CA-SFM. La prévalence relative des différentes catégories est indiquée par la taille des lettres: S, I ou R (phénotype très majoritaire: > 90 % des souches); S/R ou S/I ou I/R (phénotypes en proportion équivalente); S/R ou s/R ou S/I ou s/I etc. (un phénotype dominant par rapport à l'autre).
 (2) ++ Surproduction des systèmes d'efflux actif.



Figure 5 Image de synergie signifiant la présence d'une BLSE de classe A

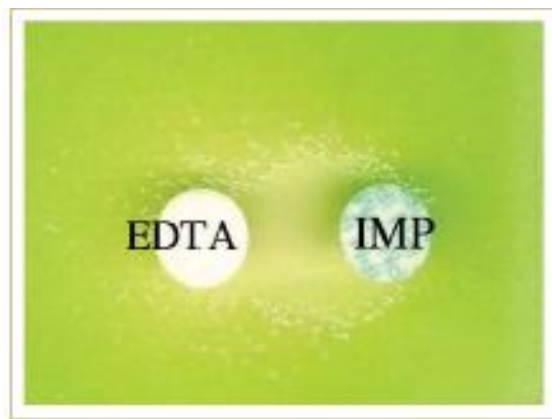


Figure 6 Image de synergie entre l'imipénème et l'EDTA, signifiant la présence d'une métallo-B-lactamase.

a.1 Surproduction de la céphalosporinase AmpC

Comme cela a été indiqué précédemment, *Pseudomonas aeruginosa* possède une céphalosporinase naturelle, AmpC, faiblement exprimée chez les bactéries sauvages. Cependant, diverses mutations peuvent entraîner la dérégulation totale ou partielle du gène codant pour cette enzyme. Il en résulte une hydrolyse de la plupart des β -lactamines à l'exception des carbapénèmes (figure 4B, tableau 2). Le céfépime résiste en général mieux à l'inactivation que la ceftazidime. Ainsi, sur un antibiogramme standard, la différence de diamètre des zones d'inhibition autour des disques de céfépime (S/I) et de ceftazidime (I/R) peut être un indicateur de la surproduction de AmpC sous réserve que d'autres mécanismes, notamment d'efflux actif (MexXY/OprM), n'interfèrent avec ce phénotype (tableau 2). Comme l'ensemble des enzymes appartenant à la classe C d'Ambler, la céphalosporinase AmpC est inhibée par de fortes concentrations (non thérapeutiques) de cloxacilline ou d'oxacilline. La réalisation d'un antibiogramme sur un milieu gélosé contenant 1 000 mg/L de cloxacilline est donc un test assez fiable permettant d'identifier les mutants dérégulés qui récupèrent dans ces conditions, une certaine sensibilité aux β -lactamines.

Actuellement, la surproduction de cette enzyme constitue le mécanisme de résistance à la ceftazidime de loin le plus fréquent chez les souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* isolées en France. Le gène de *Pseudomonas aeruginosa* codant pour AmpC n'a, pour l'instant, pas encore été identifié sur des plasmides. Il n'est donc pas, a priori, transmis à d'autres espèces comme c'est le cas des AmpC plasmidiques d'entérobactéries.

a.2 β -lactamases transférables

. β -lactamases à spectre élargie (BLSE)

Les BLSEs sont des enzymes dont le spectre, plus ou moins large, inclut les C3G et les C4G (céfépime).

Leur nombre a considérablement augmenté au cours de la dernière décennie. Elles appartiennent aux classes A ou D d'Ambler.

Depuis la description inaugurale en 1991 de l'enzyme PER-1 (*Pseudomonas* Extended Resistance) (figure 4C), 6 autres familles de BLSEs de classe A ont été identifiées chez *Pseudomonas aeruginosa*, à savoir TEM, SHV, CTX-M, VEB (Vietnamese Extended spectrum β -lactamase), GES (Guiana Extended Spectrum) et BEL (Belgium).

Différents variants ont été rapportés dans différentes parties du monde. Toutefois, toutes ces BLSEs ont la particularité d'être inhibées *in vitro* par l'acide clavulanique. Cette propriété est mise à profit en routine pour la réalisation de tests de synergie entre un disque de ceftazidime (ou de céfépime) et un disque contenant de l'acide clavulanique (habituellement en association avec de l'amoxicilline) (figure 5). Ce test relativement simple à mettre en oeuvre nécessite toutefois, chez le bacille pyocyanique, d'être adapté à chaque souche. Sa sensibilité est, en effet, optimale lorsque le bord du disque d'inhibiteur est situé à environ 6 mm de la zone d'inhibition entourant le disque de ceftazidime ou de céfépime. Une bandelette E-Test® permettant de déterminer la CMI de la ceftazidime seule et en association avec l'acide clavulanique peut être également utilisée. Les enzymes de type PER et GES sont les plus fréquentes actuellement en France. Des souches les produisant ont été impliquées dans des épidémies hospitalières.

Les BLSEs de classe D sont également appelées « oxacillinases à spectre élargi » (ES-OXA) par opposition aux « oxacillinases à spectre restreint » et aux oxacillinases à activité carbapénémase. Pour la plupart, ces BLSEs dérivent d'oxacillinases à spectre restreint par des mutations ponctuelles (OXA-14, OXA-19, OXA-28, OXA-32, OXA-45...). Leur activité enzymatique, variable sur les uréidopénicillines, les carboxypénicillines, l'aztréonam et les C3G, est peu inhibée par l'acide clavulanique sauf en ce qui concerne OXA-18 et OXA-45. Il n'existe pas de méthode simple permettant la détection de ces β -lactamases en routine. Il s'agit le plus souvent d'un diagnostic par élimination.

Toutefois, chez la plupart des souches productrices d'ES-OXA, on peut observer une faible image de synergie entre un disque de C3G (ceftazidime, céfépime) et un disque d'acide clavulanique (en association avec l'amoxicilline) ou d'imipénème placé à proximité. Ce test, qui ne se justifie que sur les souches hautement résistantes à la ceftazidime (CMI \geq 32 μ g/ml), doit être complété par des réactions d'amplification spécifiques (PCR) visant à détecter puis identifier par séquençage les gènes codant ces enzymes.

Cette démarche très spécialisée et onéreuse n'est envisageable que dans les laboratoires de référence. Les oxacillinases à large spectre n'ont été identifiées, pour l'instant, que chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Carbapénémases

Les carbapénémases sont des β -lactamases dont le spectre s'étend aux carbapénèmes (imipénème, méropénème et/ou doripénème). Depuis quelques années, les enzymes de classe A telles que les KPC (*Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*) tendent à diffuser au sein des entérobactéries. Leur présence chez des souches de *Pseudomonas aeruginosa* reste malgré tout assez rare. Les carbapénémases les plus répandues et les plus significatives chez cette espèce sont des métallob- β -lactamases (classe B d'Amber). Elles possèdent une activité hydrolytique importante sur de nombreuses β -lactamines à l'exception de l'aztréonam et parfois de la pipéracilline (figure 4D, tableau 2).

Six groupes ont été décrits chez *Pseudomonas aeruginosa* : IMP (active sur l'IMiPenem), VIM (Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase), SPM (Sao-Paulo Metallo- β -lactamase), AIM (Australia IMipenemase), GIM (German IMipenemase) et, plus récemment NDM-1 (New Delhi Metallo- β -lactamase). Toutes ces métallob- β -lactamases présentent la particularité d'être inhibées par l'EDTA et divers autres chélateurs d'ions métalliques. La présence d'une image de synergie entre un disque de carbapénème ou de C3G et un disque contenant de l'EDTA (6 μ l d'une solution à 0,5 M) est donc un test sensible et spécifique, facilement réalisable en routine (figure 6). L'EDTA peut tout aussi bien être ajouté directement sur le disque de carbapénème. Une différence de diamètre ≥ 5 mm entre les zones d'inhibition autour du disque de carbapénème et du disque combiné sera considérée comme significative. Il faut toutefois souligner que des résultats faussement positifs sont régulièrement obtenus avec certaines souches particulièrement sensibles à l'EDTA.

Ce diagnostic peut être réalisé également avec la bandelette E-Test qui contient, d'un côté, un gradient d'imipénème (IP) et de l'autre, un gradient d'imipénème combiné à de l'EDTA (IPI).

b. Résistance non enzymatique

b.1. Altération de la porine OprD

Pour franchir la membrane externe, les β -lactamines empruntent des canaux protéiques transmembranaires appelés porines. Contrairement aux autres molécules, les carbapénèmes n'utilisent pas la porine majoritaire OprF pour pénétrer dans la bactérie, mais une porine spécifique dénommée OprD. La « perte » de la porine OprD sous l'effet de mutations est un événement fréquent chez les souches cliniques. Elle entraîne une augmentation de 4 à 16 fois de la résistance à l'ensemble des carbapénèmes sans affecter les CMI des autres β lactamines (figure 4E).

Le doripénème et le méropénème sont, en général, moins touchés par ce mécanisme d'imperméabilité car ils possèdent une meilleure activité intrinsèque sur le bacille pyocyanique que l'imipénème. Ainsi, des mutants apparaissant « I » ou « R » à l'imipénème peuvent parfois rester « S » aux deux autres produits.

b.2. Surproduction de système d'efflux actif

En plus de leur rôle dans la résistance naturelle, les pompes d'efflux MexAB-OprM et MexXY/OprM peuvent contribuer, lorsqu'elles sont surproduites, à accroître la résistance de la bactérie à plusieurs familles d'antibiotiques. Ce phénomène est lié à la survenue de mutations spontanées dans les gènes régulateurs de ces systèmes. L'isolement de souches de *Pseudomonas aeruginosa* surproduisant l'un ou l'autre, voire les deux systèmes, est courant. Les mutants surproduisant le système MexAB-OprM sont en général 4 à 8 fois plus résistants que les souches sauvages aux β -lactamines, en particulier la ticarcilline, le céfotaxime et l'aztréonam (figure 4F). D'un point de vue pratique, le diamètre d'inhibition autour du disque d'aztréonam est inférieur d'au moins 4 mm à celui de la ceftazidime.

La surproduction du système MexAB-OprM se traduit aussi par une réduction des zones d'inhibition autour des disques de fluoroquinolones (ofloxacine, ciprofloxacine, lévofloxacine). La surexpression du système MexXY/OprM conduit, quant à elle, à une augmentation de 2 à 8 fois de la résistance aux céphalosporines zwitterioniques (céfépime, cefpirome), aux aminosides (gentamicine, amikacine) et aux fluoroquinolones (figure 4G).

Les mutants surproduisant la pompe MexCD-OprJ ou MexEF-OprN sont beaucoup plus rares parmi les souches cliniques. Moins virulents que les souches sauvages, ils seraient moins à même de générer des infections ou de coloniser les patients. La surexpression de MexCD-OprJ s'accompagne d'une résistance accrue aux céphalosporines zwitterioniques et aux fluoroquinolones allant de paire avec une hypersensibilité à l'aztréonam, la ticarcilline et l'imipénème. Le phénotype résultant de la surproduction de MexEF-OprN associe une résistance modérée aux fluoroquinolones et à l'imipénème.

D'une façon générale, les niveaux de résistance conférés par l'efflux actif peuvent sembler modestes comparés à ceux résultant d'autres mécanismes, en particulier enzymatiques.

Il faut toutefois insister sur le fait qu'une résistance de bas niveau peut s'avérer cliniquement significative lorsque l'antibiotique se trouve à une faible concentration dans le site infectieux (dosage insuffisant, mauvaise diffusion, pharmacocinétique défavorable) ou que son activité est suboptimale (mauvais choix). Enfin, les systèmes d'efflux peuvent ajouter leurs effets à ceux d'autres mécanismes et contribuer ainsi à l'émergence de souches hautement résistantes vis-à-vis de nombreux antibiotiques. En routine, l'identification des mutants d'efflux n'est pas nécessaire car les résultats de l'antibiogramme ne sont pas interprétés.

1.5.3.2. Aminosides

Comme de nombreuses autres bactéries, *Pseudomonas aeruginosa* peut acquérir des gènes de résistance aux aminosides véhiculés par des plasmides. Le mécanisme de loin le plus fréquent réside dans la production d'enzymes stéréo-spécifiques capables de modifier des fonctions -NH₂ ou -OH bien précises sur les molécules d'aminoside, empêchant ces dernières de se fixer sur le ribosome. Trois classes d'enzymes ont été décrites, à savoir les aminosides-N-amino-acétyl transférases (AAC), les aminosides-o-nucléotidyl transférases (ANT) et les aminosides-o-phosphotransférases (APH). Produites le plus souvent de manière constitutive, les enzymes modificatrices confèrent une résistance de haut niveau à un ou plusieurs aminosides.

Leurs gènes étant fréquemment portés par des transposons et/ou des intégrons, elles sont régulièrement co-produites avec des β -lactamases. Les enzymes ANT(2'')-1, AAC(3)-I et AAC(6')-Ib sont les plus répandues parmi les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*.

Elles génèrent une résistance élevée à la gentamicine et à la tobramycine pour ANT(2'')-1, à la gentamicine pour AAC(3)-I, à la tobramycine et à l'amikacine pour AAC(6')-Ib. La production simultanée chez une même bactérie de ANT(2'')-1 et de AAC(6')-Ib se traduit par une résistance à tous les aminosides disponibles (tobramycine, amikacine, nétilmicine et gentamicine).

Cette dernière décennie a été marquée par l'émergence d'un nouveau mécanisme de résistance chez les bacilles à Gram négatif, capable de modifier non pas l'aminoside mais la structure ribosomale sur lequel il se fixe, l'ARN 16S.

La production des méthylases RmtA et RmtD (Resistance methylase transferase) a été rapportée chez des isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* au Japon en 2003 et au Brésil en 2007, respectivement. La méthylation de l'ARN 16S par ces enzymes entraîne une résistance aux 2-déoxystreptamines bisubstituées en 4,6 telles que la gentamicine, la tobramycine, l'amikacine, l'isépamycine et l'arbékacine. La production concomitante d'une méthylase de l'ARN 16S et d'une métallob-lactamase a donc pour conséquence de rendre les souches insensibles à presque tous les aminosides et toutes les β -lactamines. La coexistence de ces deux mécanismes transférables illustre comment des bactéries peuvent évoluer rapidement vers la toto-résistance. Encore peu répandues chez *Pseudomonas aeruginosa*, les méthylases de l'ARN 16S sont décrites de plus en plus souvent chez les entérobactéries telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella enterica*, *Citrobacter freundii*, *Shigella flexneri* et chez *Acinetobacter* sp. dans plusieurs pays dont la France. Ces enzymes représentent donc un risque épidémiologique majeur qui doit inciter à la vigilance.

Plus limité dans ces effets mais aussi très fréquent en France, le mécanisme d'efflux actif MexXY/OprM est la principale cause de résistance non enzymatique aux aminosides chez *Pseudomonas aeruginosa*, en particulier parmi les isolats provenant de malades atteints de mucoviscidose.

1.5.3.3. Fluoroquinolones

Les 4-quinolones inhibent l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase IV, deux enzymes impliquées dans la transcription et la réplication de l'ADN bactérien. À l'instar de ce qui a été décrit chez d'autres espèces bactériennes, ces deux protéines peuvent devenir insensibles à l'action des 4-quinolones lorsque des mutations introduisent des substitutions d'acides aminés dans les régions où se fixent les antibiotiques (Quinolone Resistance Determining Regions). Fréquentes, les altérations de la sous-unité GyrA de l'ADN gyrase aboutissent à une augmentation significative de la CMI de toutes les fluoroquinolones. Les altérations de la sous-unité ParC de la topoisomérase IV apparaissent secondairement chez des mutants de type GyrA ; elles contribuent à amplifier la résistance jusqu'à des niveaux très élevés (CMI de la ciprofloxacine $\geq 32 \mu\text{g/mL}$).

La ciprofloxacine et dans une moindre mesure la lévofloxacine sont les fluoroquinolones possédant la meilleure activité intrinsèque sur *Pseudomonas aeruginosa*. Toutefois, ces deux molécules ne doivent pas être utilisées en monothérapie dans le traitement des infections (sauf urinaires basses) à *Pseudomonas aeruginosa* en raison de l'émergence fréquente des mutants de cible (GyrA, ParC).

La surproduction des pompes d'efflux MexAB-OprM, MexXY/OprM, plus rarement MexCD-OprJ et MexEFOprN est à l'origine d'une résistance modérée aux fluoroquinolones ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques.

Les niveaux conférés, bien que modestes (CMI de la ciprofloxacine de 0,25 à 2 $\mu\text{g/mL}$), n'en sont pas moins significatifs dans certains contextes cliniques comme cela a été évoqué plus haut.

1.5.3.4. Colistine

Les polymyxines (polymyxine B et colistine) sont des antibiotiques polycationiques bactéricides actifs sur la plupart des bacilles à Gram négatif dont *Pseudomonas aeruginosa*.

Leur mode d'action passe par la désorganisation de la membrane externe puis de la membrane cytoplasmique.

Ce mécanisme très direct ne prête guère au développement de mécanismes de résistance. Pourtant, le bacille pyocyanique parvient dans certaines circonstances à modifier la composition de sa membrane externe de façon à la rendre imperméable à ces deux agents. Ceci peut être obtenu, soit par des mutations, soit par l'activation de systèmes membranaires complexes appelés « systèmes de régulation à deux composants » tels que ParRS. Dans les deux cas, il en résulte une résistance de bas niveau (CMI multipliée par 2 à 8) suffisante pour compromettre un traitement par voie intraveineuse ou en aérosol. L'identification des mutants résistants repose sur la détermination de la CMI de la colistine par une méthode de dilution, en milieu liquide ou en milieu solide. La mauvaise diffusion de cet antibiotique (le seul utilisé en thérapeutique) dans les géloses rend ininterprétables les résultats obtenus par la méthode des disques. Il n'y a donc pas de correspondance entre le niveau de sensibilité d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* à la colistine et le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de cet antibiotique.

1.5.4. En pratique au laboratoire

a. Facteurs influençant les résultats

La standardisation actuelle des milieux commercialisés a permis d'écarter les variations liées au pH et à la composition des milieux, en particulier les concentrations en ions divalents Ca^{2+} et Mg^{2+} . Certaines variations restent pourtant observables pour les aminosides, en fonction du type de gélose et de disques utilisés, surtout pour les mécanismes à bas bruit liés à des pompes d'efflux.

L'effet inoculum reste actuellement le facteur le plus important de variabilité. Si cet effet est absent pour les aminoglycosides ou les fluoroquinolones, il est particulièrement prégnant pour les β -lactamines. Pour ces molécules, un accroissement de l'inoculum s'accompagne d'une augmentation de CMI d'un facteur 5 à 500 selon le niveau de l'inoculum et peut entraîner des erreurs d'interprétation. Les β -lactamines les plus sensibles à cet effet sont dans un ordre croissant l'imipénème, le méropénème, la ceftazidime et la ticarcilline. Ceci souligne l'importance primordiale d'une bonne standardisation de l'inoculum à l'aide d'une gamme McFarland, d'un photomètre ou d'un néphélémètre calibré.

b. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) pour la mesure des CMI par la méthode de dilution en gélose et pour la méthode de l'antibiogramme par diffusion en gélose sont présentées dans le tableau 3. Ces recommandations, notamment la préparation de l'inoculum, peuvent se révéler difficilement applicables en routine. Outre le recours à une gamme MacFarland, l'utilisation d'un système d'inoculation type PrestoABG® (ELITech Group, Puteaux, France) ou Inoclic (I2A) constitue une alternative simple permettant l'obtention rapide d'un inoculum bien standardisé. En pratique, sur une culture de 24 h sur milieu gélosé non sélectif, l'inoculateur PrestoABG® est piqué verticalement au centre d'une colonie. L'inoculateur est ensuite retiré verticalement et l'inoculum est immédiatement déchargé dans 1 ml d'eau distillée stérile, puis vortexé 10 à 15 s afin d'obtenir une bonne homogénéisation. L'inoculum ainsi préparé est directement utilisé pour ensemercer par écouvillonnage la gélose.

L'European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) propose des recommandations proches pour la méthode de diffusion en milieu gélosé. La seule différence notable est l'utilisation d'une solution inoculum à 10⁸ UFC/mL pour l'ensemencement par écouvillonnage du milieu (0,5 Mac Farland, pur).

Pour une détermination simple en routine de la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique pour une souche de *Pseudomonas aeruginosa*, la technique des bandelettes imbibées de gradient d'antibiotique (type E-Test) donne satisfaction depuis plusieurs années. Pour mémoire, en l'absence de corrélation CMI/diamètre concernant la colistine, il y a lieu de déterminer sa CMI en cas d'utilisation thérapeutique. La bandelette imprégnée du type E-Test est utilisée dans cette indication par la majorité des laboratoires. Pour des souches isolées chez des patients atteints de mucoviscidose, la détermination de la CMI de la colistine comporte des particularités techniques en fonction de la méthode utilisée. Un article récent positionne la technique de dilution en gélose comme la méthode la plus sensible pour détecter des résistances à la colistine chez ces patients atteints de mucoviscidose.

Tableau 3 Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* conditions techniques générales du CA-SFM pour la méthode de diffusion en milieu gélosé ou pour la détermination des CMI par la méthode de dilution en gélose

Inoculum
À partir d'une culture de 18-24 heures sur milieu gélosé non sélectif, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~10 ⁸ UFC/mL). Cette suspension peut être également préparée à partir d'une culture en bouillon Mueller-Hinton obtenue après incubation à 37 °C au bain-marie agité pendant 3 à 5 heures, dont la densité est ajustée au standard McFarland 0,5
Milieu
Gélose Mueller-Hinton
Ensemencement
Méthode de dilution: diluer la suspension inoculum au 1/10 ^e et déposer 1 à 2 µL (~10 ⁴ UFC par spot)
Méthode de diffusion: - ensemencer par écouvillonnage avec la suspension inoculum diluée au 1/10 ^e (~10 ⁷ UFC/mL) - ou ensemencer par inondation avec la suspension inoculum diluée au 1/100 ^e (~10 ⁶ UFC/mL)
Lecture: après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C sans CO ₂ .

c. Choix des antibiotiques à étudier en routine

La liste des molécules à tester selon les recommandations 2011 du Comité de l'antibiogramme est mentionnée dans le tableau 4. Les molécules testées en 1^{re} intention (liste standard) servent à l'orientation thérapeutique, celles testées en 2^e intention (liste complémentaire) sont destinées à l'étude des souches multirésistantes, à la surveillance épidémiologique de la résistance ou à l'aide à l'interprétation des résultats de l'antibiogramme. Le choix des antibiotiques de la liste standard peut être adapté par chaque laboratoire en fonction des schémas thérapeutiques de première intention retenus par le Comité du médicament local ou des données épidémiologiques locales.

Tableau 4 Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* Antibiotiques à tester selon les recommandations du CA-SFM avec leurs concentrations et diamètres critiques (CA-SFM, 2011)

Molécules	Concentrations critiques (mg/L)		Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S	R		S	R
Ticarcilline	≤ 16	> 16	75	≥ 22	< 22
Ticarcilline/ acide clavulanique	≤ 16/2	16/2	75/10	≥ 22	< 22
Pipéracilline	≤ 16	> 16	75	≥ 18	< 18
Pipéracilline/ Tazobactam	≤ 16/4	> 16/4	75/10	≥ 19	< 19
Ceftazidime	≤ 8	> 8	30	≥ 19	< 19
Céfépime	≤ 8	> 8	30	≥ 19	< 19
Cefpirome	≤ 8	> 8	30	≥ 19	< 19
Imipénème	≤ 4	> 8	10	≥ 22	< 17
Méropénème	≤ 2	> 8	10	≥ 22	< 15
Doripénème	≤ 1	> 4	10	≥ 24	< 19
Aztréonam	≤ 1	> 16	30	≥ 27	< 19
Tobramycine	≤ 4	> 4	10	≥ 16	< 16
Amikacine	≤ 8	> 16	30	≥ 17	< 15
Gentamicine	≤ 4	> 4	15	≥ 16	< 16
Nétilmicine	≤ 4	> 4	30	≥ 19	< 19
Colistine	≤ 2	> 4	50	-	-
Ciprofloxacine	≤ 0,5	> 1	5	≥ 25	< 22
Lévofloxacine	≤ 1	> 2	5	≥ 20	< 17
Rifampicine	≤ 4	> 16	30	≥ 19	< 14
Fosfomycine	≤ 32	> 32	50 + 50 G6P	≥ 14	< 14
Sulfamides	≤ 64	> 256	200	≥ 17	< 12

Les molécules de la liste standard sont présentées sur fond grisé.
 Les concentrations critiques proposées par l'EUCAST et approuvées par le CA-SFM sont indiquées en gras.
 S: sensible ; R: résistant.

d. Catégorisation clinique

Un travail d'harmonisation des molécules à tester proposées par le CA-SFM et l'EUCAST et de leurs valeurs de concentrations critiques a été mené afin d'aboutir à une meilleure cohérence au niveau européen. En 2008 et 2009, les modifications de ces concentrations critiques avaient peu modifié les taux de sensibilité aux β -lactamines, sauf pour l'aztréonam.

À ce jour, seule une molécule appartenant à la liste standard du CA-SFM, la colistine, présente une discordance entre les valeurs critiques proposées par les deux comités.

L'EUCAST retient comme concentration critique unique, la valeur de 4 mg/L (≤ 4 mg/L souche sensible ; > 4 mg/L souche résistante) alors que le CA-SFM propose en 2011 les deux concentrations critiques 2 et 4 mg/L.

e. Contrôle de qualité interne (CQI)

Un contrôle de qualité interne est recommandé par le CA-SFM et l'EUCAST pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. La souche de référence recommandée est *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110 (ATCC 27853).

Pour le CA-SFM, les limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose sont présentées dans le tableau 5.

Les valeurs du CQI proposées par l'EUCAST pour les diamètres de cette même souche sont sensiblement différentes, en raison de charges de disques différentes et d'un inoculum plus lourd (solution inoculum à 108 UFC/mL pour l'ensemencement par écouvillonnage du milieu soit 0,5 Mac Farland, pur)¹.

¹

www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_QC_tables_1.3.pdf
Ce document permet aussi d'obtenir les valeurs cibles et les écarts acceptables pour les CMI de la souche ATCC 27853.

Tableau 5 limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110 (ATCC 27 853) proposées par la CA-SFM

Molécules					
	Ticarcilline	Pipéracilline	Ceftazidime	Imipénème	Gentamicine
Diamètres (mm)	25 – 30,5	27,5 – 32,5	25,5 – 31,5	24,5 – 29,5	15,5 – 22,5
Molécules					
	Tobramycine	Amikacine	Ciprofloxacine	Colistine	
Diamètres (mm)	20,5 – 26,5	20,0 – 26,0	29,0 – 36,5	17,0 – 22,0	

f. Systèmes automatisés

Les systèmes automatisés ont fait l'objet de plusieurs évaluations et comparaisons vis-à-vis des techniques de référence. Si les discordances observées sont faibles pour les phénotypes sensibles, la faible production d'une pénicillinase ou l'hyperproduction de la céphalosporinase AmpC peut donner lieu à des discordances mineures, majeures (fausse résistance) voire très majeures (fausse sensibilité) pour les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et les céphalosporines anti-*Pseudomonas*. Dès lors, il est recommandé de confirmer les résultats obtenus avec ces systèmes automatisés par une technique de référence devant une souche présentant un phénotype de résistance incohérent ou atypique (souche ceftazidime sensible mais résistante à l'aztréonam ou au céfépime par exemple) ou en cas d'infection sévère.

g. Règles d'interprétation

Il existe peu de règles pour la lecture interprétative de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*. Ceci peut s'expliquer par le fait que les associations de mécanismes sont fréquentes, masquant ainsi les phénotypes « purs » et compliquant l'interprétation.

Les recommandations 2011 du CA-SFM proposent deux règles d'interprétation.

- Un résultat « S » pour la ticarcilline et « R » pour la ticarcilline-clavulanate (TCC) est en relation avec une céphalosporinase inductible. Il n'y a pas lieu de changer la catégorisation de la ticarcilline.

- Une synergie entre le TCC et l'aztréonam et/ou la ceftazidime et/ou le céfépime et/ou le ceftiprome permet de détecter certaines BLSE.

L'EUCAST propose les règles suivantes depuis 2008

- les résistances concernant un carbapénème ne peuvent être extrapolées aux autres carbapénèmes ;
- en cas de présence de MBL confirmée chez *Pseudomonas aeruginosa*, interpréter «R» les résultats « I » et interpréter « I » les résultats « S » pour toutes les β -lactamines, sauf l'aztréonam. L'aztréonam doit être rendu comme observé sur l'antibiogramme ;
- pour les aminosides, en cas de résultat brut « I » ou « R » à la tobramycine et « S » à la gentamicine et à l'amikacine, interpréter « R » la gentamicine et l'amikacine.

h. Quel screening effectuer au laboratoire pour dépister les BLSE ou carbapénémases ?

Il convient de s'intéresser aux souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ceftazidime. Parmi celles-ci, le mécanisme le plus fréquent est une surproduction de la céphalosporinase AmpC. Les arguments phénotypiques simples en faveur de ce mécanisme sont une différence de diamètre des zones d'inhibition autour des disques de céfépime (S/I) et de ceftazidime (I/R) et un rétablissement de la sensibilité en présence de cloxacilline à 500 mg/L ou 1 000 mg/L. On notera cependant que les géloses Muller-Hinton + cloxacilline commercialisées prêtes à l'emploi ne contiennent que 250 mg/L de cloxacilline (adaptées aux entérobactéries). La recherche de MBL est justifiée devant une souche résistante à la ceftazidime et à l'imipénème.

La recherche de BLSE, MBL ou ES-OXA, quelle que soit la technique choisie, repose sur les principes suivants.

- Les BLSE de classe A (PER, VEB, TEM, GES, BEL, SHV) sont inhibées par l'acide clavulanique.
- Les ES-OXA sont inhibées par l'imipénème et faiblement par l'acide clavulanique.
- Les MBL (VIM, IMP, NDM-1) sont inhibées par l'EDTA.

Au laboratoire, le biologiste dispose ainsi de plusieurs techniques simples lui permettant de s'orienter.

- Des comparaisons de CMI en l'absence ou en présence d'inhibiteur (bandelettes type E-Test).
 - Des comparaisons des diamètres d'un disque imprégné d'antibiotique et d'un disque imprégné de l'antibiotique + inhibiteur.
 - Des recherches de synergie entre disques
- synergie entre un disque de CAZ et un disque d'AMC en faveur d'une BLSE de classe A (rarement d'une ES-OXA) ;
- synergie entre un disque chargé d'EDTA et un disque de CAZ ou d'IPM en faveur d'une MBL ;
- synergie entre un disque d'IPM et un disque de FEP ou de CAZ en faveur d'une ES-OXA.
- L'ensemble de ces synergies peut être recherché en un temps grâce au protocole exposé dans la figure 7.

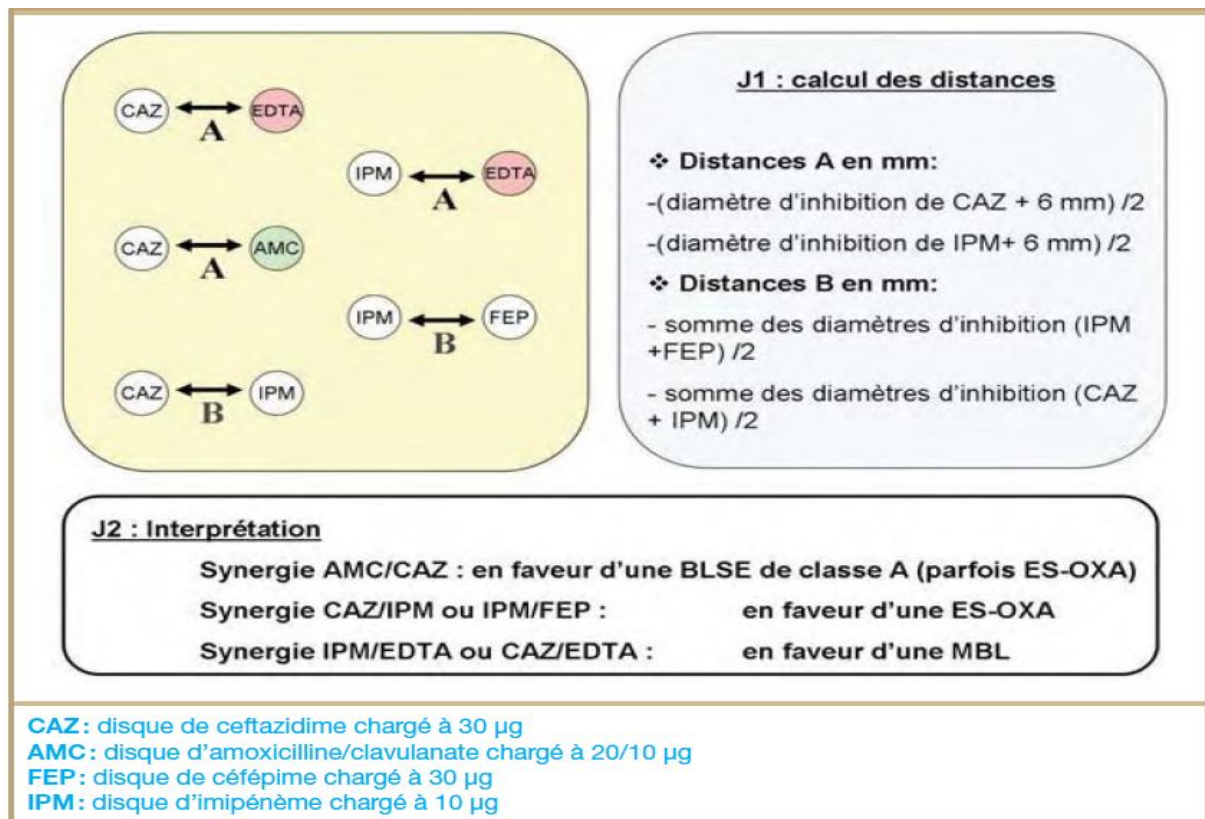


Figure 7 Mécanismes de résistance aux B-lactamines, proposition de protocole pour recherche de synergie chez *Pseudomonas aeruginosa*. (www.cnr-pseudomonas.fr/).

Ce protocole doit s'adapter à chaque souche il convient de mesurer à J1 sur l'antibiogramme initial par diffusion en milieu gélosé les diamètres d'inhibition autour des disques de CAZ, IPM, FEP. Un calcul simple permet alors de déterminer la distance optimale pour le positionnement des différents disques imprégnés à déposer sur la gélose. Le disque EDTA est fabriqué à J1 en déposant sur des disques non chargés (6 mm de diamètre) 5 à 6 µL d'une solution d'EDTA à 0,5 M pH 7. L'ensemencement de la gélose est effectué selon les recommandations habituelles du CA SFM. Les différents disques sont déposés à la pince. Les résultats sont lus après 18 heures d'incubation à 37 °C. Si aucune synergie n'est observée, il convient d'évoquer une surproduction de la céphalosporinase AmpC.

1.5.5. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

Épidémiologie

a. Tendances évolutives

La sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux principaux antibiotiques anti-*Pseudomonas* en France semble stable ces dernières années (tableau 6). Il existe cependant dans notre pays un fond significatif, de l'ordre de 5 à 10 % de souches multirésistantes (résistances associées à au moins 3 classes d'antibiotiques), voire toto-résistantes. On observe une diminution continue de la fréquence du sérotype multirésistant O₁₂ (9 % des souches en 1997-1998 contre 6 % en 1999 et 4 % en 2004). Ce sérotype, producteur dans environ 80 % des cas de la carbénicillinase PSE-1 rassemblait avec le sérotype O₁₁, souvent hyperproducteur de céphalosporinase, la majorité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques par association de plusieurs mécanismes de résistances aux β-lactamines et à plusieurs autres familles d'antibiotiques. On observe en revanche, au cours de la dernière décennie, l'émergence de petits foyers de souches porteuses de β-lactamases à spectre élargi, d'enzymes de classe D à spectre élargi (ES-OXA) qui hydrolysent les céphalosporines anti-*Pseudomonas* comme la ceftazidime ou le céfépime et enfin de carbapénémases, surtout représentées en France par des métallo-enzymes de type VIM-2 (tableau 7).

Ce type de souches qui représentaient globalement 1,3 % des isolats en 2004 était absent dans toutes les études multicentriques de la fin des années 90 et n'était décrit à cette époque que très ponctuellement en France.

En 2007, une étude multicentrique française menée par l'ONERBA avait pour principal objectif de déterminer la fréquence de ces différentes enzymes. Menée sur 1 mois, elle a concerné 85 hôpitaux et 2 326 souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

La résistance à la ceftazidime (définie en 2007 par une CMI > à 32 mg/L) était estimée à 6 % (n = 140). Parmi ces souches résistantes à la ceftazidime, le CNR associé pour la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* a détecté 15 β -lactamases de type BLSE, MBL ou ES-OXA, sur 13 souches (prévalence au sein des souches résistantes à la ceftazidime 9,3 % ; prévalence globale au sein de l'espèce 0,6 %). Il s'agissait de 6 BLSE (PER, SHV-2a et VEB), 4 MBLs (3 enzymes de type VIM et 2 enzymes de type IMP) et 5 oxacillinasés à spectre étendu (OXA-19 et OXA-28). Ainsi, en 2007, la prévalence globale au sein de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* était de 0,26 % pour les BLSE, 0,21 % pour les ES-OXA et de 0,17 % pour les MBLs.

En 2010, l'étude GESPAR menée par le CNR associé pour la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* avait pour objectif de définir la prévalence et la nature des mécanismes de résistance aux carbapénèmes dans les services de réanimation français 500 souches de *Pseudomonas aeruginosa* avec une CMI de l'imipénème > 4 mg/L ont été réceptionnées, en provenance de 26 laboratoires. Parmi elles, 6,7 % produisaient une carbapénémase (www.cnr-pseudomonas.fr/).

Une étude allemande menée en 2008 et 2009, avait évalué à 1,6 % le pourcentage de MBL au sein de *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème. Il s'agissait là encore d'enzyme de type VIM.

En Tunisie, une étude, menée entre 2003 et 2007 dans un hôpital universitaire, retrouvait 7 % de souches productrices de carbapénémase parmi les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème. Ces chiffres sont inférieurs à ce qui a pu être rapporté dans des pays endémiques pour les carbapénémases de type VIM, comme l'Italie ou la Grèce.

Tableau 6 Evolution de la sensibilité (%) aux ATB de *Pseudomonas aeruginosa* dans plusieurs études multicentriques entre 1995 et 2004

Antibiotique	1995 ¹ n = 1 149	1997-8 ¹ n = 2 097	2000 ² n = 226	2004 ³ n = 450
Ticarcilline	58	57	62	62
Ticarcilline + acide clavulanique	58	58	62	61
Pipéracilline	72	72	75	78
Pipéracilline + tazobactam	79	79	79	80
Ceftazidime	80	75	83	78
Céfépime	55	60	62	55
Cefpirome	43	-	-	40
Aztréonam	-	59	51	50
Imipénème	86	85	93	83
Amikacine	67	69	85	86
Tobramycine	-	-	84	80
Ciprofloxacine	66	62	68	68
Lévofloxacine	-	-	-	57
Fosfomycine	-	34	39	-

1, 3 Réseaux GERPB et GERPA. 15 centres hospitaliers universitaires avec recueil sur un mois en 1997 et 1998.
2 Réseau Aquitaine de l'ONERBA. Souches de cliniques privées (75 %) et de patients non hospitalisés (25 %) avec recueil en 2000 sur 4 mois [64].

Tableau 7 Evolution (%) de la distribution des mécanismes de résistance aux β -lactamines parmi les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* dans 15 centres hospitalo-universitaires entre 1997 et 2004

Mécanismes de résistance aux bêtalactamines	1997-8 n = 2087	2004 n = 450
Pas de mécanisme identifié	57	62
Pénicillinases transférables	11,2	6,4
β -lactamases et oxacillinases à spectre élargi	0	0,9
Carbapénémases	0	0,4
Céphalosporinase hyperproduite	16	14,5
Résistance non enzymatique (autre que imipénème)	17,3	22,6
Résistance non enzymatique à l'imipénème (OprD)	15	16,2

b. Sensibilité en fonction de l'origine du prélèvement

La sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans les infections diagnostiquées dans les laboratoires de biologie médicale de ville a été estimée par une enquête multicentrique française menée en 2000 sur 226 souches isolées de patients ambulatoires ou de clinique [64]. De façon surprenante, les taux de sensibilité aux antibiotiques étaient très proches de ceux des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolés dans les hôpitaux, sauf pour la ceftazidime et l'imipénème qui étaient moins fréquemment touchés qu'à l'hôpital. Parmi les services hospitaliers français, les taux de sensibilité les plus bas sont rencontrés dans les services de soins intensifs et de brûlés (tableau 8). Aux États-Unis, dans les unités de soins intensifs, la prévalence des souches multirésistantes (résistantes à au moins 3 classes thérapeutiques parmi pénicillines/céphalosporines anti-*Pseudomonas*, carbapénèmes, fluoroquinolones et aminosides) avait été estimée à 15 % en 2001-2002. Une étude multicentrique américaine, menée sur 12 années consécutives dans des unités de soins intensifs, retrouve des taux de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* de 89,2 % pour la ceftazidime, 81,7 % pour l'imipénème, 66,3 % seulement pour la ciprofloxacine et 89,6 % pour l'amikacine. Cette étude permet de constater une majoration de la prévalence des souches multirésistantes entre 1993 et 2004.

Tableau 8 Sensibilité (%) de *P. aeruginosa* aux ATB en fonction des groupes de services

Antibiotique (% de sensibilité)	Médecine	Chirurgie	Soins intensifs et brûlés
	n = 118	n = 95	n = 96
Ticarcilline	64	65	54
Ticarcilline + acide clavulanique	64	65	54
Pipéracilline	81	81	70
Pipéracilline + tazobactam	83	82	73
Ceftazidime	83	84	70
Céfépime	72	70	56
Aztréonam	50	48	50
Imipénème	87	89	77
Amikacine	94	88	83
Tobramycine	87	86	73
Ciprofloxacine	71	79	67

c. Sensibilité en fonction du site infectieux

Parmi les principaux types de prélèvements, les taux les plus bas de sensibilité sont rapportés pour les prélèvements d'origine respiratoire pour les β -lactamines et les prélèvements urinaires pour la ciprofloxacine. Ceci peut parfaitement s'expliquer par la fréquence et l'importance des colonisations à *Pseudomonas aeruginosa* sur sonde urinaire ou dans le tractus respiratoire et la pression antibiotique exercée chez ces patients avec les familles d'antibiotiques les plus utilisées dans ces localisations spécifiques.

Dans les bactériémies, les données issues du réseau européen EARSS sur des collectifs importants de souches provenant de 3 réseaux de l'ONERBA sont exposées dans le tableau 9 et semblent assez stables au cours des 5 dernières années ([http //www.rivm.nl/earss/](http://www.rivm.nl/earss/)). Une légère diminution de la sensibilité à l'imipénème et à l'amikacine en 2009 devra cependant être surveillée avec attention dans les prochaines années. Cette stabilité a également été notée dans certaines études européennes, notamment au Royaume-Uni et en Irlande, depuis 2001. Cependant, les cartes des figures 8 et 9 soulignent bien l'hétérogénéité de la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* au sein de l'Europe.

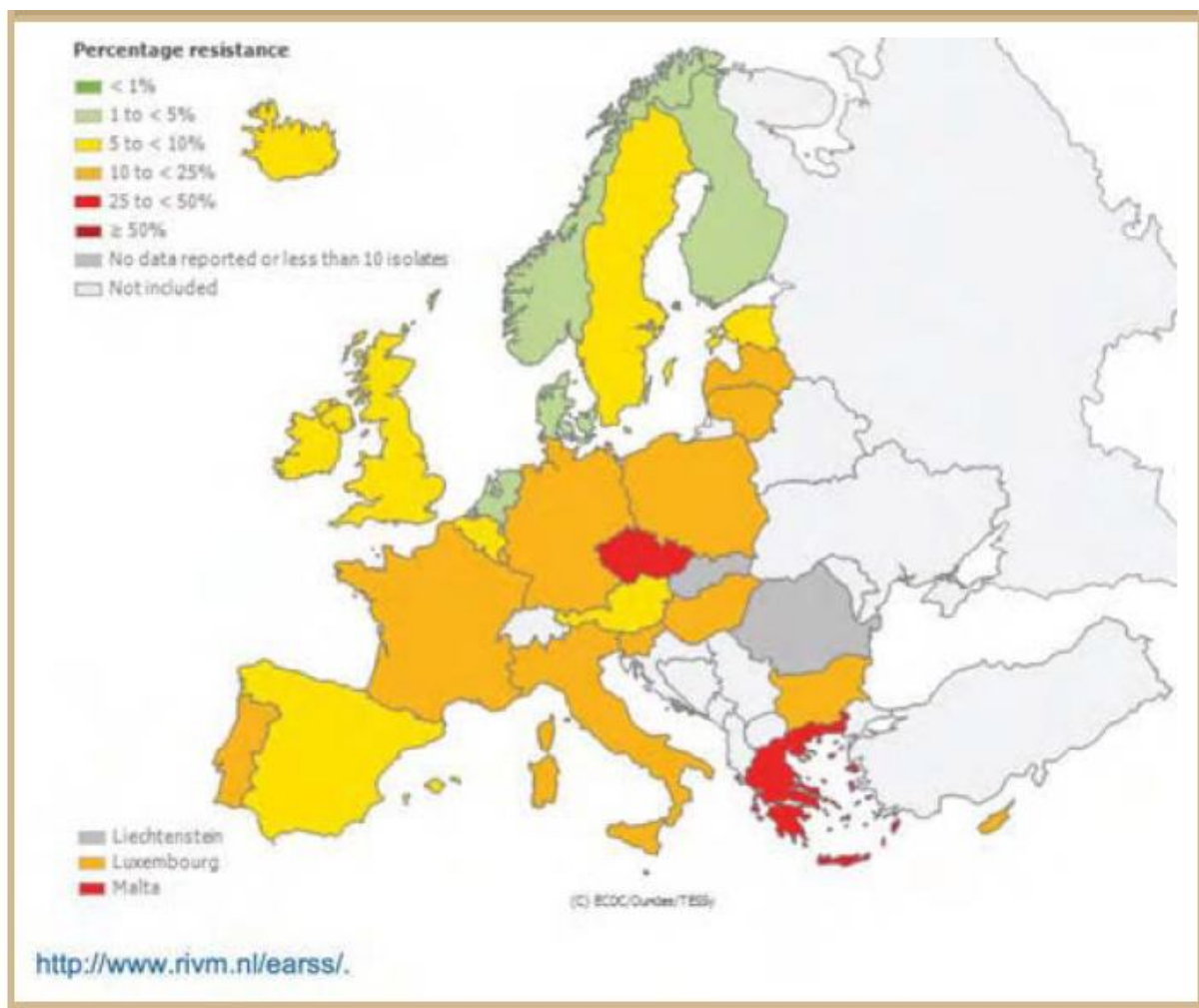


Figure 8 Carte issue de l'European Antimicrobial Résistance Surveillance System (EARSS) représentant les taux de résistance à la céftazidime chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'hémocultures.

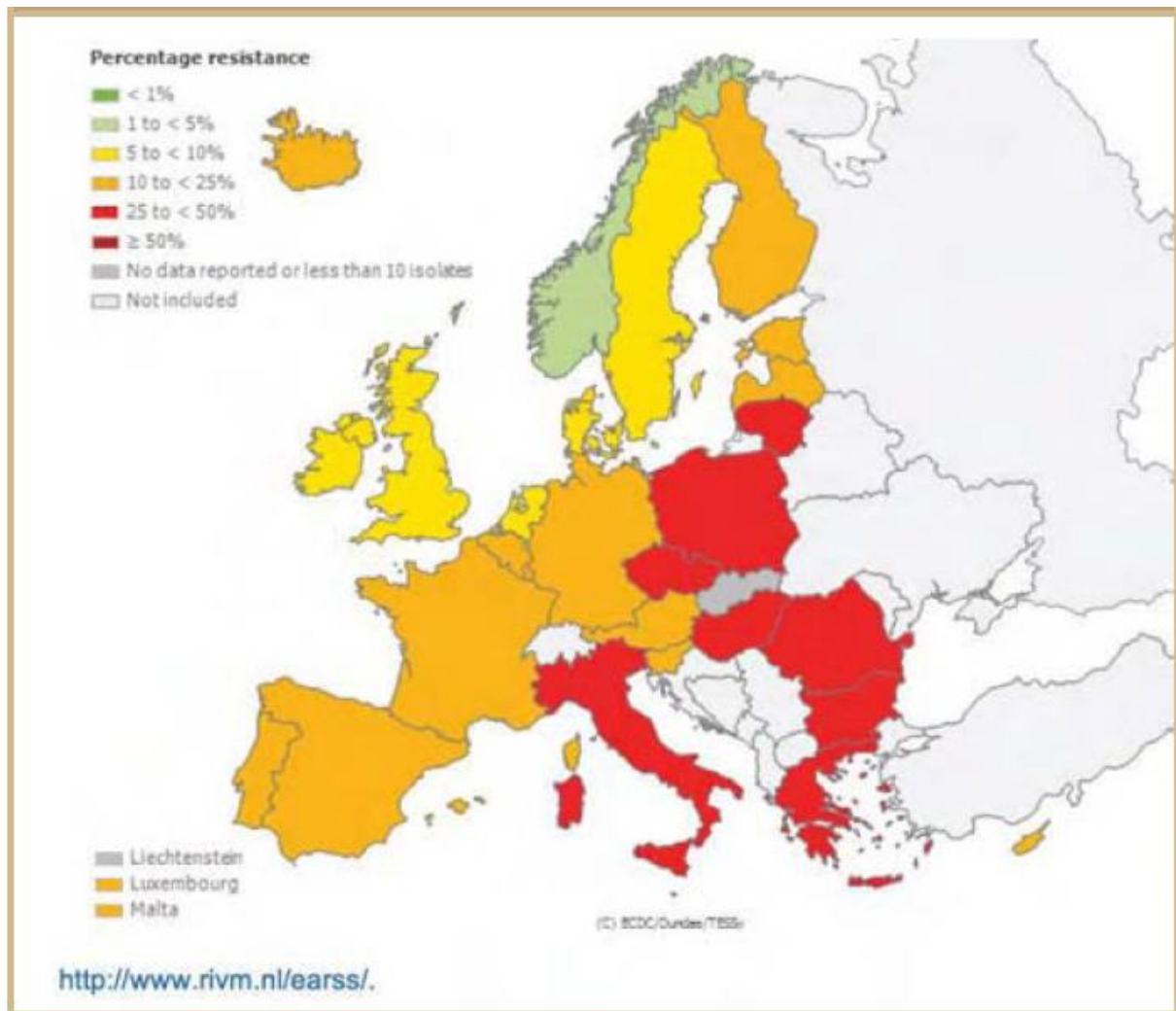


Figure 9 Carte issue de l'EARSS représentant les taux de résistance à la ciprofloxacine chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'hémocultures

Aux États-Unis, la prévalence des souches multirésistantes au sein des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'hémoculturesa récemment été évaluée à 14 %. Le doripénèmen'était actif sur aucune de ces souches multirésistantes.

La colistine était active sur la grande majorité des souches, puisqu'une seule s'avérait résistante.

Tableau 9 Evolution de la sensibilité aux ATB (%) de Pseudomonas aeruginosa isolés d'hémocultures données issues de 3 réseaux français fédérés par l'ONERBA, dans le cadre de l'EARSS.

Année Nombre de souches	2005 n > 900	2006 n > 900	2007 n > 1 100	2008 n > 1 100	2009 n > 1 100
Pipéracilline+tazobactam	77,07	81,87	79,54	77,97	74,83
Ceftazidime	81,44	85,92	81,38	84,83	81,11
Imipénème	79,27	83,86	81,57	80,54	75,72
Amikacine	87,5	85,47	85,68	88,9	82,92
Fluoroquinolones	70,76	74,67	73,74	74,98	72,26

Adapté d'après données <http://www.rivm.nl/earss/>.

d. Sensibilité dans des contextes particuliers

Chez les patients atteints de mucoviscidose, les infections chroniques à *Pseudomonas aeruginosa* sont particulièrement fréquentes.

Elles font suite à une colonisation précoce qui survient dès l'enfance, et sont émaillées de poussées d'infections aiguës respiratoires. Une fois que les voies respiratoires du patient sont colonisées, *Pseudomonas aeruginosa* met en jeu plusieurs mécanismes adaptatifs : formation du biofilm, échappement au système immunitaire de l'hôte puis production d'alginate.

Lors des premiers stades de l'infection, les souches ne produisent pas encore d'alginate et sont généralement sensibles aux antibiotiques habituellement actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Lorsque l'infection devient chronique, les souches colonisatrices deviennent mucoïdes (jusqu'à 80 % de la population bactérienne). Soumises de façon itérative à une pression antibiotique lors des phases d'exacerbation, elles deviennent de moins en moins sensibles aux antibiotiques. Enfin, 37 % des patients atteints de mucoviscidose et présentant une infection chronique par *Pseudomonas aeruginosa* possèdent des souches dites hypermutatrices, caractérisées par un taux de mutations jusqu'à 100 fois plus élevé qu'une souche classique. Certaines mutations confèrent à ces souches de *Pseudomonas aeruginosa* une meilleure adaptation à l'hôte et la mise en jeu de mécanismes de résistance aux antibiotiques. Une étude menée en 2007 par le GERPA a permis d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques anti-*Pseudomonas* de 204 souches isolées chez des patients atteints de mucoviscidose dans 10 centres spécialisés.

Les taux de sensibilité relevés globalement tous les âges confondus chez ces patients sont tout à fait comparables à ceux relevés dans les études générales mais on constate cependant une nette diminution de la sensibilité avec l'âge et avec la multiplication des traitements antibiotiques.

C'est dans ce contexte particulier que l'on rencontre fréquemment des souches multirésistantes, résultant de la mise en jeu simultanée de multiples facteurs de résistance aux antibiotiques. La colistine reste l'antibiotique le plus constamment actif pour ces souches.

1.6. Résistance aux antiseptiques et désinfectants

Pseudomonas aeruginosa se situe parmi les bactéries à Gram négatif les moins sensibles à l'action bactériostatique et bactéricide des antiseptiques et désinfectants. La faible sensibilité de cette espèce est liée à la structure de la membrane externe, qui fait obstacle au passage des molécules biocides [7]. Cette imperméabilité peut parfois être associée à un mécanisme d'efflux [10]. Les antiseptiques et désinfectants les plus actifs sur *Pseudomonas aeruginosa* sont les dérivés chlorés, les dérivés iodés et iodophores (polyvidone iodée), les aldéhydes, l'acide peracétique et le peroxyde d'hydrogène. L'alcool, les dérivés phénoliques (hexachlorophène, triclosan), les ammoniums quaternaires, les biguanides (chlorhexidine), les dérivés mercuriels ou les dérivés argentiques comme la sulfadiazine d'argent sont moins actifs [7].

Les résistances acquises aux biocides sont d'origine chromosomique ou extrachromosomique. Les résistances chromosomiques sont souvent instables et réversibles. Liées à des modifications de la membrane externe par des phénomènes d'adaptation ou d'efflux, elles n'ont été décrites que dans des conditions expérimentales. Les résistances acquises liées à des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) sont quant à elles fréquemment décrites chez les souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des dérivés mercuriels, des sels argentiques ou des composés phénoliques comme l'hexachlorophène [7].

Certains de ces mécanismes n'entraînent qu'une modification des CMI, sans conséquence majeure pour le potentiel bactéricide. Il y a toutefois un risque d'inefficacité du produit si la concentration d'utilisation est mal choisie, s'il existe une erreur de dilution ou si le nettoyage préalable est mal réalisé. La présence d'un biofilm sur les parois du flacon contaminé par *Pseudomonas aeruginosa* et une dilution excessive des biocides sont les causes essentielles de la colonisation du produit et de la transmission d'infections nosocomiales. La protection conférée par le biofilm augmente considérablement la résistance des bactéries aux biocides [8]. Ces situations sont surtout fréquentes avec les ammoniums quaternaires, mais ont également été décrites avec d'autres antiseptiques comme l'hexachlorophène, la chlorhexidine ou même les iodophores.

Les études effectuées sur des souches cliniques suggèrent l'absence de corrélation directe entre les mécanismes de résistance aux antibiotiques et les mécanismes de résistance aux antiseptiques ou désinfectants. Toutefois, l'association potentielle de gènes de résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques sur des éléments génétiques mobiles, ou la présence de résistances croisées biocidesantibiotiques par mécanisme d'efflux actif doit être plus largement évaluée. La sélection de souches exprimant des résistances croisées par efflux à différentes familles d'antibiotiques peut être obtenue à l'aide d'un composé phénolique comme le triclosan [9].

1.7. Facteurs de risque d'acquisition de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Les facteurs de risque de résistance retrouvés dans la littérature sont

1.7.1. Un inoculum bactérien important [23]

Quelles que soient les classes d'antibiotiques, c'est en début de traitement, lorsque l'inoculum bactérien est le plus important, que la probabilité de sélection de résistances est la plus forte. La présence prolongée de concentrations sub-inhibitrices de l'antibiotique au site de l'infection et la plasticité génétique de *Pseudomonas aeruginosa*, sont les principaux facteurs qui expliquent l'émergence rapide de résistance en cours de traitement.

1.7.2. Une exposition antérieure à des antibiotiques naturellement actifs sur Pseudomonas aeruginosa

Le lien spécifique entre le type d'antibiotique préalablement reçu et la classe d'antibiotique à laquelle la souche est résistante a été largement étudié. Ainsi les facteurs de risque retrouvés sont :

- Pour la résistance à la pipéracilline prescription antérieure d'une pénicilline ou d'une céphalosporine à large spectre.
- Pour la résistance à la ceftazidime prescription antérieure de pipéracilline ou d'une céphalosporine à large spectre, via la sélection par les β -lactamases de souches hyperproductrices de céphalosporinases ; mais aussi prescription antérieure de fluoroquinolone, par résistances croisées entre les 2 classes grâce au mécanisme d'efflux actif.
- Pour la résistance à l'imipénème la prescription préalable d'imipénème [24], via la sélection de souches déficitaires en porine D2 [25]
- Pour la résistance aux fluoroquinolones prescription préalable d'une fluoroquinolone et de carbapénème [24].
- Pour une multi-résistance (souches MDR) la prescription préalable de fluoroquinolone (facteur le plus constamment retrouvé), mais aussi d'imipénème, de céphalosporine anti-Pseudomonas aeruginosa, ou d'aminosides [26].

1.7.3. Un traitement par monothérapie anti-pyocyanique [27]

La justification d'employer une bithérapie dans les infections à Pseudomonas aeruginosa est, entre autres, de prévenir l'apparition de mutants résistants. Cependant cette notion reste controversée.

1.7.4. La présence d'un matériel étranger [28]

Notamment ventilation mécanique, cathéter veineux central, sonde urinaire, sonde de Foley.

1.7.5. Une procédure invasive récente [24]

Un examen invasif est un examen médical requérant une effraction de la peau plus importante qu'une simple ponction veineuse. Il peut être désagréable (pas obligatoirement) et nécessite parfois une anesthésie locale ou générale. Il peut nécessiter une hospitalisation et comporte un certain nombre d'effets secondaires, voire de risque d'accident.

1.7.6. Une hospitalisation [28] [29]

Une hospitalisation en service de réanimation, de grands brûlés, ou d'hémato-oncologie, Ce risque peut être lié dans certains cas à une transmission croisée de souches multi-résistantes. Les malades porteurs de bactéries multirésistantes (BMR) ne sont pas isolés avant les 48 heures nécessaires à l'analyse bactériologique et le risque de dissémination d'une souche multirésistante persiste durant cette période. De plus, le dépistage systématique représente un coût non négligeable en charge de travail infirmier et en activité de laboratoire.

1.7.7. Certains sites infectieux [30]

Par exemple les souches d'origine urinaire résistent dans plus de 50% des cas à la ciprofloxacine, et les souches respiratoires de patients atteints de mucoviscidose résistent dans plus de 70% des cas à l'amikacine, probablement en relation avec les traitements antibiotiques reçus pour des épisodes infectieux précédents.

D'autres facteurs de risque de résistance sont également retrouvés dans certaines études

- Un âge avancé
- Une infection par le VIH
- une toxicomanie intraveineuse.

1.8. Epidémiologie de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

1.8.1. Maroc [31]

Une étude prospective réalisée au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital des spécialités de Rabat (HSR) [hôpital de 358 lits et près de 3500 admissions par an] durant 11 mois. Les spécialités représentées sont la neurologie, la neurochirurgie, l'otorhinolaryngologie, l'ophtalmologie et la réanimation.

L'objectif de l'étude a été d'évaluer la prévalence de résistance à l'imipénème par production de métallob-lactamases (M β L) chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* (Ab) isolées au laboratoire de bactériologie de l'hôpital des spécialités de Rabat Maroc (HSR) dans différents prélèvements biologiques pendant une période d'une année.

Ont été incluses dans l'étude, toutes les souches non doublantes de *Pseudomonas aeruginosa* et d'Ab isolées à partir des différents prélèvements pathologiques à visée diagnostique effectués chez les patients hospitalisés dans divers services de l'HSR.

L'isolement des souches a été réalisé sur quatre milieux de culture à savoir la gélose au sang, gélose chocolat, gélose désoxycholate lactose (DCL) et milieu sélectif pour bacilles pyocyaniques. L'identification a mis en œuvre les techniques conventionnelles de bactériologie (coloration de Gram, oxydase) et les caractères biochimiques à l'aide de galeries API20NE (BioMérieux, France).

Concernant les antibiotiques, en plus de l'imipénème (IPM 10 μ g) qui a fait l'objet de l'étude, d'autres molécules sont étudiées parallèlement selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) telles ticarcilline (TIC 75 μ g), pipéracilline (PIP 75 μ g), céftazidime (CAZ 30 μ g), gentamycine (GM 15 μ g), tobramycine (TM 10 μ g), amikacine (AK 30 μ g), colistine (CS 50 μ g), ciprofloxacine (CIP 5 μ g) et doxycycline (DO 30 UI).

La sensibilité des isolats vis-à-vis des antibiotiques a été déterminée par la méthode standard de diffusion en milieu gélosé de Müller-Hinton selon les recommandations du CA-SFM. Les souches ont été classées en catégorie sensible (S) ou résistante (R) en tenant compte de la lecture interprétative de l'antibiogramme (celles de sensibilité intermédiaire ont été classées dans la catégorie [R]).

Les résultats obtenus sont

85 souches bactériennes (48 *Pseudomonas aeruginosa* et 37 Ab) ont été recueillies de prélèvements respiratoires (62 % des Ab et 44 % des *Pseudomonas aeruginosa*) essentiellement, de prélèvements urinaires (22 % des Ab et 25 % des *Pseudomonas aeruginosa*), de prélèvements de pus (11 % des Ab et 29 % des *Pseudomonas aeruginosa*) et de liquide céphalorachidien (5 % des Ab et 2 % des *Pseudomonas aeruginosa*) (Figure 10). Le service de réanimation a été à l'origine de 76 % des souches d'Ab et 52 % des souches de *Pseudomonas aeruginosa* suivi de loin par les services de Neurochirurgie (14 % ; 15 %), de Neurologie (8 % ; 17 %) et d'ORL (3 % ; 13 %)

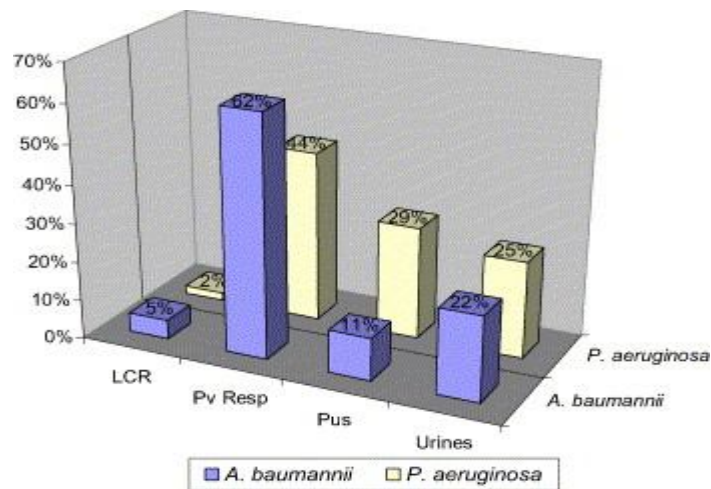


Figure 10 Répartition des souches de *Pseudomonas* et *Acinetobacter* selon les prélèvements

LCR liquide céphalorachidien.

Pv Resp prélèvements respiratoires.

Dans cette série, la prévalence de ce mécanisme de résistance est de 38 % pour *Ab* et de 27 % pour *Pseudomonas aeruginosa*. Celle-ci varie selon les pays et le micro-organisme en question, elle a été respectivement de 33,3, 32 et 14,2 % en Turquie, en Amérique latine et en Corée pour *Ab* et de 56,8, 17,5 et 11,4 % pour *Pseudomonas aeruginosa* [32]. Ces résultats montrent que la fréquence de ces souches augmente de façon inquiétante partout dans le monde et leur émergence représente un sérieux risque épidémiologique pour au moins deux raisons, d'une part ces MBL confèrent non seulement la résistance à l'IPM mais à toutes les bêta-lactamines et aux autres classes d'antibiotiques comme les aminosides, et d'autre part les gènes codant pour ces enzymes sont portés par des intégrons qui peuvent se transmettre horizontalement à d'autres souches.

Le pourcentage des souches productrices de MBL au sein des souches résistantes à l'IPM est illustré dans le Tableau 10 et la lecture interprétative des antibiogrammes a révélé que ces souches sont également résistantes aux autres antibiotiques testés à l'exception de la DO et la CS pour *Ab* et la CS pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 10 Taux de résistance à l'IPM et pourcentage des souches productrices de métalloenzymes

Souches bactériennes	Taux de résistance à l'IPM	Production de métalloenzymes
<i>Ab</i> (37)	57 % (21/37)	38 % (8/21)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (48)	23 % (11/48)	27 % (3/11)

1.8.2. Etats-Unis [33]

Dans l'étude du NNIS réalisée entre 1998 et 2003, la médiane des taux de résistance à la pipéracilline était de 14,3% des souches isolées dans les services de soins intensifs et de 9,2% des souches isolées des autres services. Les médianes des taux de résistance à la ceftazidime étaient dans ces mêmes services respectivement de 10,8% et 7%, celles de l'imipénème de

13,2 % et 10%, et celles de la ciprofloxacine de 29,3% et 27,4%. On note surtout une progression importante de la résistance entre les périodes 1998-2002 et l'année 2003 cette augmentation est de 20% pour la résistance à la ceftazidime, de 15% pour la résistance à l'imipénème, et de 9% pour la résistance à la ciprofloxacine.

1.8.3. Europe [34]

La résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* est élevée partout dans l'Europe, près des trois quarts des pays (figure 11-14).

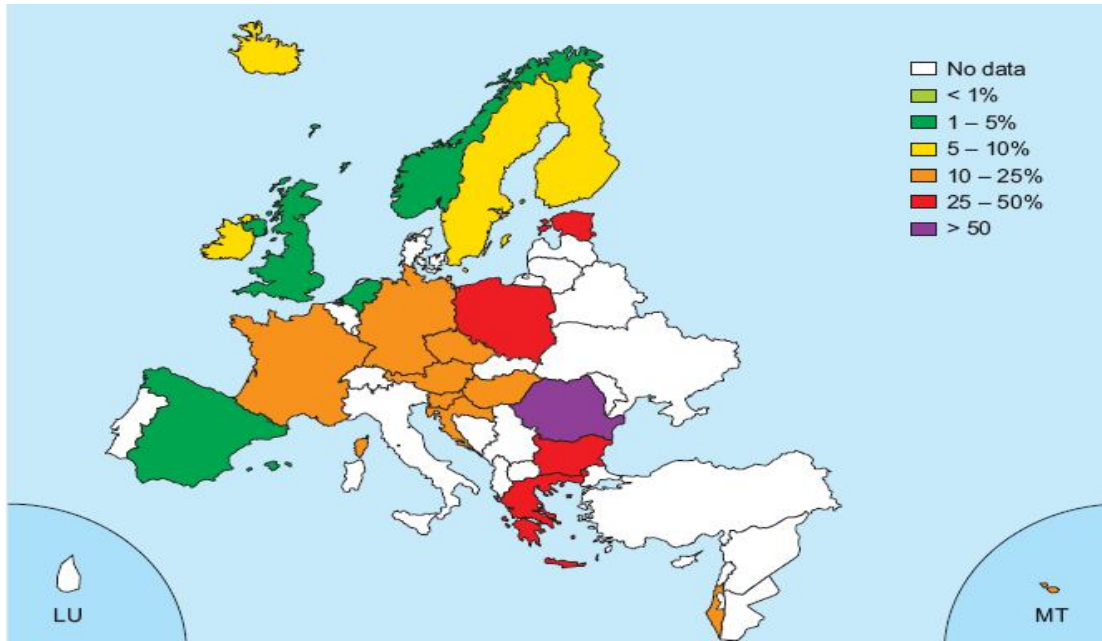


Figure 11 Proportion des résistance aux à pipéracilline de *Pseudomonas aeruginosa* dans les pays de l'union européen en 2008, donnée EARSS

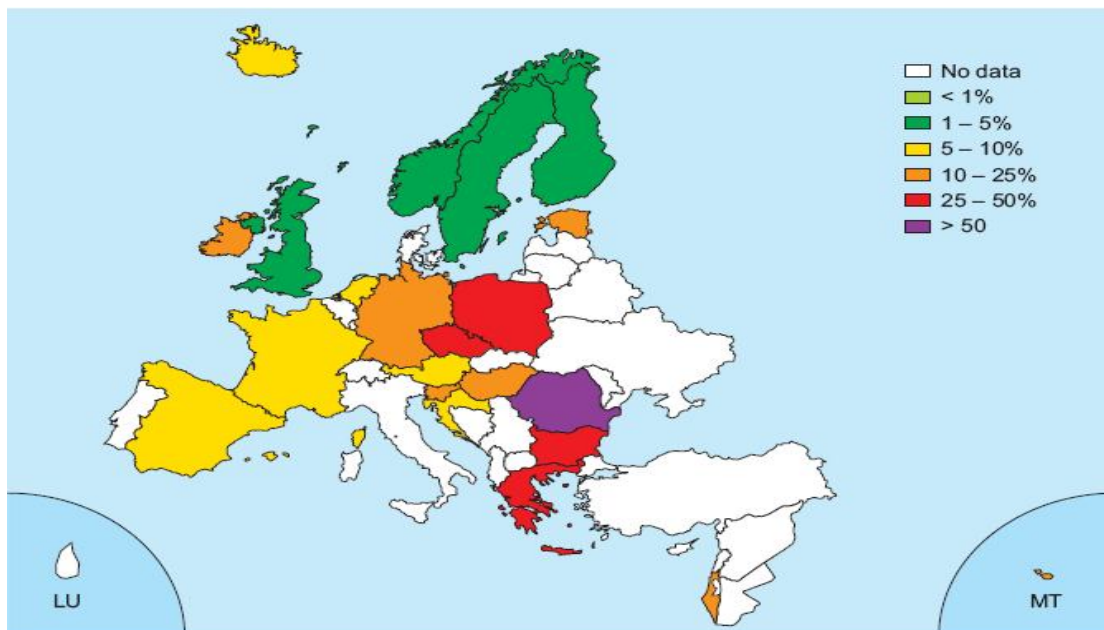


Figure 12 Proportion des résistance à céftazidime de *Pseudomonas aeruginosa* dans les pays de l'union européen en 2008, donnée EARSS

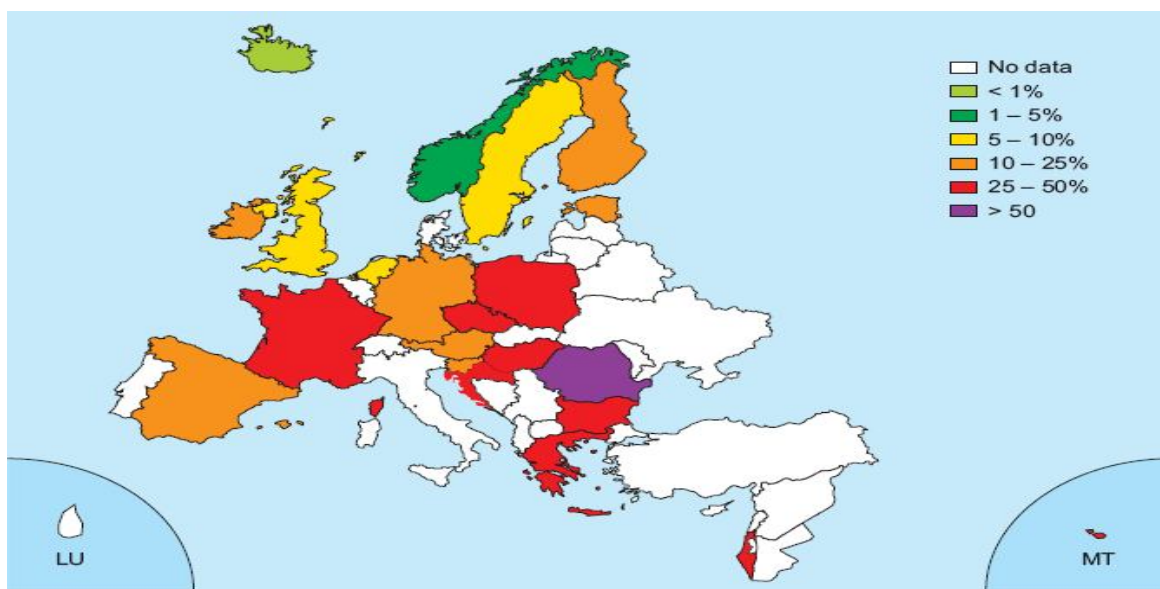


Figure 13 Proportion des résistance aux fluoroquinolones de *Pseudomonas aeruginosa* dans les pays de l'union européen en 2008, donnée EARSS

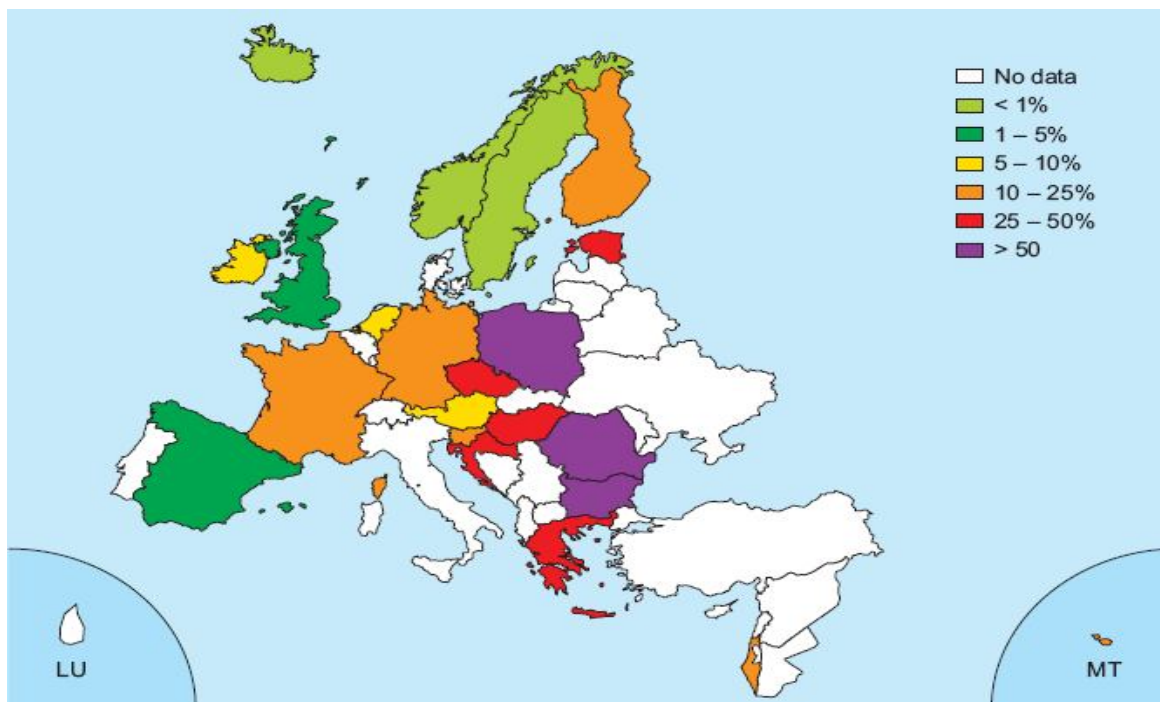


Figure 14 Proportion des résistance aux aminoglycosides de *Pseudomonas aeruginosa* dans les pays de l'union européen en 2008, donnée EARSS

1.9. Impact de la multirésistance sur la morbidité et la mortalité des patients infectés [35].

Jusqu'à présent, il n'a pas été démontré que les BMR étaient plus ou moins virulentes que les bactéries sensibles de même espèce. Cependant, il a été récemment montré que, selon l'espèce, 2/3 à 3/4 des patients pour lesquels une BMR est isolée de prélèvements à visée diagnostique sont effectivement infectés par cette bactérie. Le risque d'infection par BMR augmente avec le nombre et la durée des procédures invasives.

Les infections à BMR entraînent des durées de séjour supérieures à celles constatées pour les infections nosocomiales à bactéries sensibles de la même espèce. Le retard à l'instauration d'un traitement efficace, lié à la multirésistance, constitue un facteur de risque de surmortalité en cas d'infection grave. La multirésistance peut rendre difficile le traitement de certaines infections qui nécessitent le recours à une antibiothérapie très prolongée, généralement par voie orale, ou à des antibiotiques de bonne diffusion tissulaire. Enfin, l'adaptation progressive des bactéries aux antibiotiques, et l'augmentation de la pression de sélection par les derniers antibiotiques actifs qui en découle, rendent probable, à court terme, la survenue d'impasses thérapeutiques.

1.10 Pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa* [36]

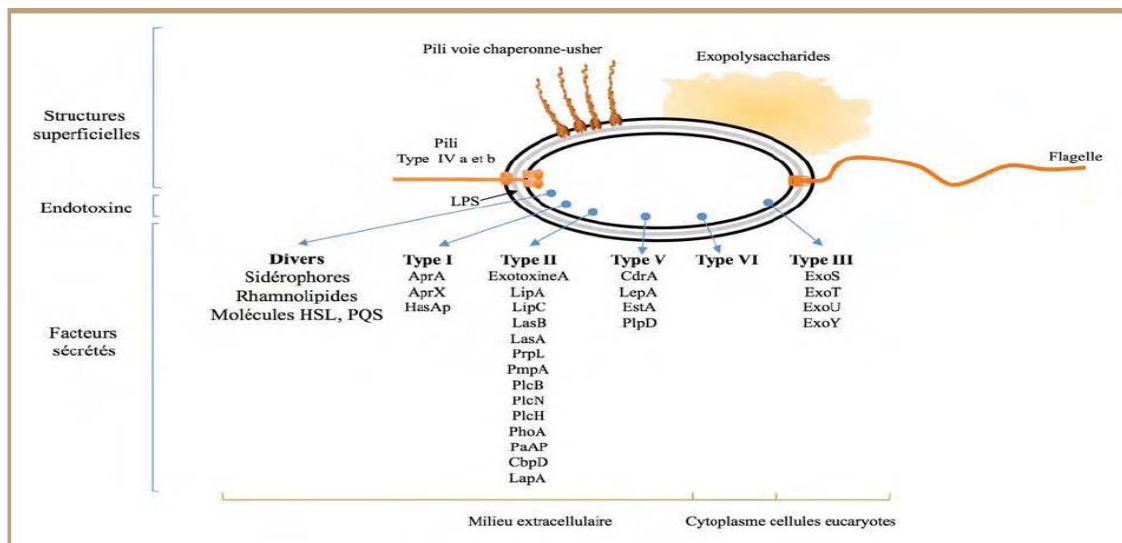


Figure 15 Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

La pathogénie de *Pseudomonas aeruginosa* est liée à la production de nombreux facteurs de virulence membranaires et extracellulaires. Les facteurs de virulence sont des molécules qui permettent

à la bactérie de survivre et de se multiplier dans différents microenvironnements, en particulier chez l'hôte (tableau 11). Les facteurs de virulence de surface incluent le flagelle, le pilus, et le LPS. Les facteurs sécrétés comportent les produits extracellulaires (protéases, hémolysine, Exotoxine A,...), les protéines du système de sécrétion de type III, les molécules du "Quorum sensing" et l'alginate.

Tableau 11 Principaux facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* [37]

Facteur	Activité	Cible	Régulation	Effet
Exotoxine A	ADP-ribosylation	EF-2 Fer	Quorum sensing	Nécrose tissulaire
Elastase B	Protéolyse	Elastine, Ig	Quorum sensing	Nécrose tissulaire. Anti défenses infectieuses
Phospholipase	Hydrolyse	Surfactant		Anti-clairance
Rhamonolipides	Détersion	Surfactant	Quorum sensing	Anti-clairance
Flagelle	Mobilité		Chimiotactisme	Diffusion tissulaire
Exotoxine S	ADP-ribosylation			Contact cellulaire Antiphagocytose, Invasion tissulaire, Inflammation
Exotoxine U	Adénylate cyclase			Contact cellulaire Antiphagocytose Inflammation
Pyoverdine Pyochéline	Captage de fer		fer	invasion

1.10.1 Facteurs de virulence membranaire

Parmi les facteurs membranaires on cite le flagelle, le facteur d'adhésion (pili de type IV), le LPS, la porine OprF et l'exopolysaccharides.

A- Flagelle [38]

Pseudomonas aeruginosa produit un flagelle monotriche polaire indispensable à la mobilité bactérienne. La flagelline est la principale protéine constitutive du flagelle, elle joue un rôle important dans l'induction de la réponse proinflammatoire de l'hôte. Le flagelle s'agrandit par l'addition de sous-unités de flagelline à l'extrémité la plus éloignée du corps cellulaire. Ces sous-unités diffusent à travers le domaine creux du flagelle, atteignant ainsi son extrémité (Figure 16). Le flagelle joue un rôle au stade initial de l'infection pulmonaire, permettant l'adhérence des bactéries aux cellules épithéliales respiratoires.

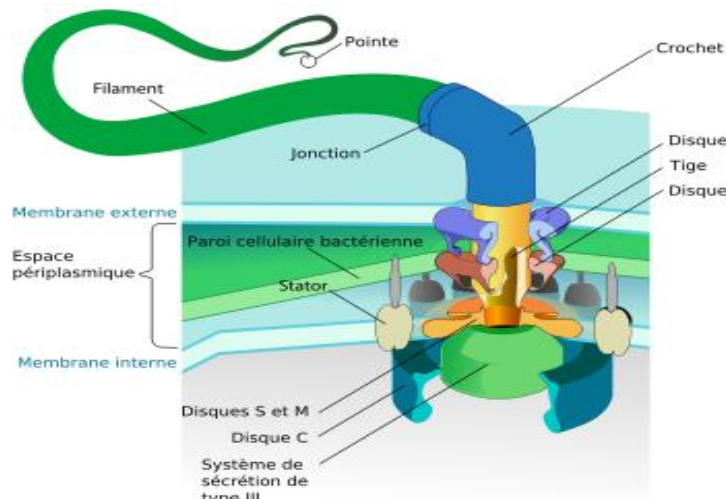


Figure 16 Structure d'un flagelle bactérien [39]

B- Pili polaires [40]

Pseudomonas aeruginosa exprime un nombre limité de pili polaires. Le pilus est une petite structure filamenteuse d'environ 6 nm de diamètre constituée d'empilements de monomères de la protéine appelée piline. Les pili de *Pseudomonas aeruginosa* sont parmi les rares pili procaryotes impliqués dans la motilité bactérienne. Les pili de type IV, par leurs propriétés rétractiles, permettent à *Pseudomonas aeruginosa* d'envahir les surfaces hydratées et de coloniser rapidement les voies respiratoires. Le pilus facilite aussi l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales en se liant au récepteur Asialo-GM1 et est indispensable à la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*.

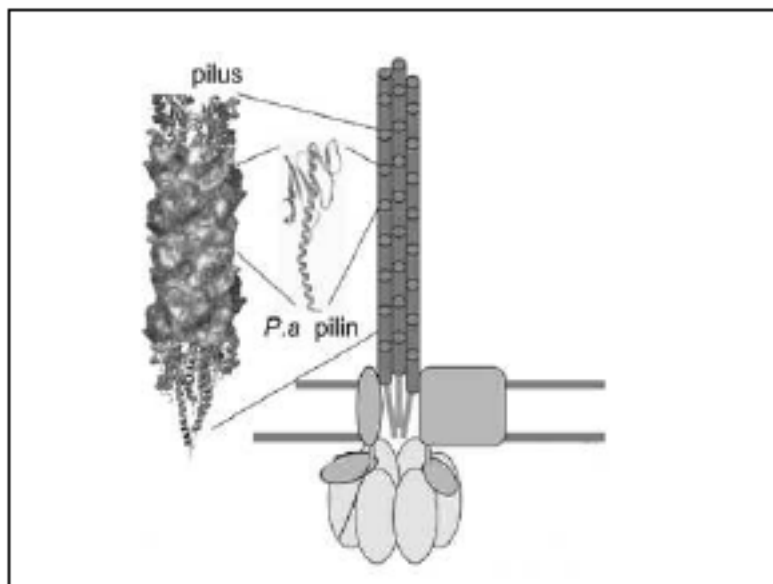


Figure 17 Structure de pilus de type IV de *Pseudomonas aeruginosa* (Craig L et al. 2006)

C- Lipopolysaccharides [41]

Le LPS (figure 18) est un composant essentiel de la paroi bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa*. Il est constitué d'un lipide A, une région hydrophobe permettant l'ancrage de la structure dans la membrane externe, d'un cœur oligosaccharidique et de l'antigène-O, une partie polysaccharidique variable débordant de la membrane externe . Le lipide A possède des propriétés toxiques correspondant à l'endotoxine des bactéries Gram négatif et est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort. La variabilité de l'antigène-O est responsable de la spécificité antigénique O au sein d'une même espèce bactérienne. Selon que l'antigène O est présent ou absent sur le cœur oligosaccharidique, on parle respectivement de phénotype lisse ou rugueux. Le phénotype lisse a été souvent décrit comme plus virulent par rapport à un mutant isogénique possédant un phénotype rugueux.

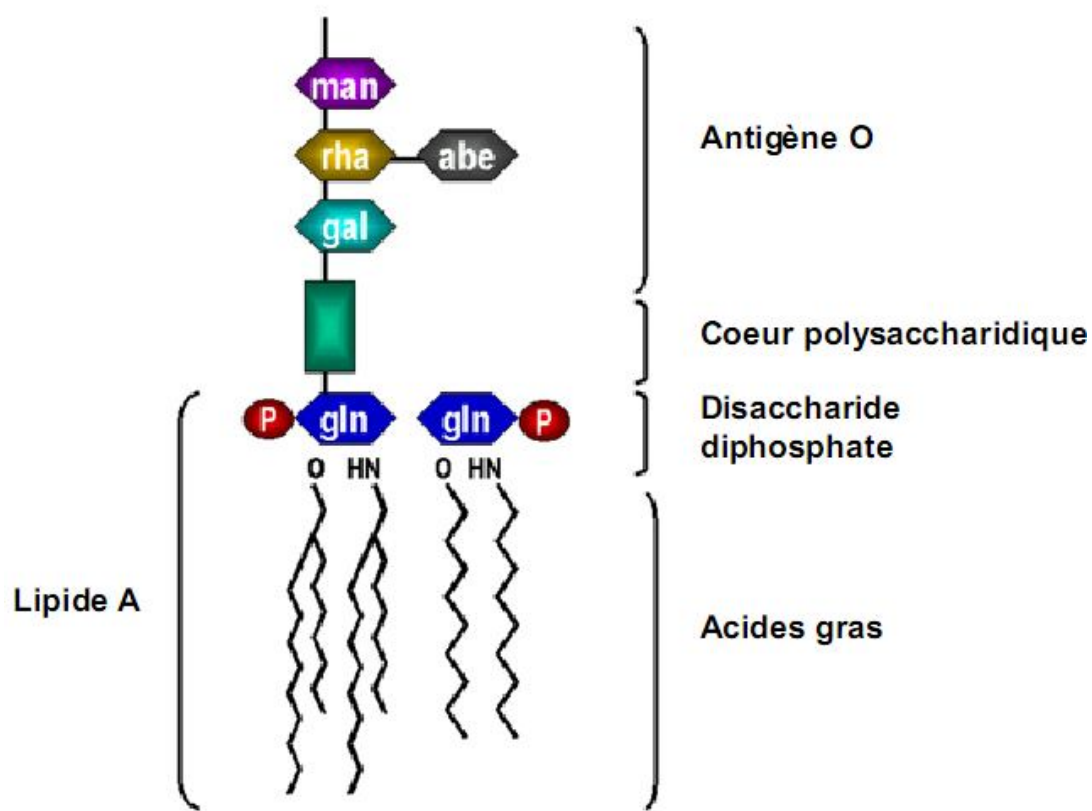


Figure 18 Structure du lipopolysaccharide [42]

D- Exopolysaccharides [43]

Exopolysaccharides sont des polymères à haut poids moléculaire qui sont constitués de résidus de sucre et sont sécrétées par *Pseudomonas aeruginosa* dans le milieu environnant. *Pseudomonas aeruginosa* synthétise un large spectre de polysaccharides multifonctionnel comprenant des polysaccharides intracellulaires, les polysaccharides structuraux et des polysaccharides extracellulaires ou exopolysaccharides. La principale fonction est la résistance à la phagocytose.

E- La protéine OprF

La protéine OprF de la membrane externe de *Pseudomonas aeruginosa* est une porine majeure. Il s'agit d'une protéine bifonctionnelle possédant une activité porine à travers son canal à eau et jouant le rôle de protéine de structure importante au maintien de l'intégrité bactérienne.

Cette protéine forme un nombre limité de larges canaux au niveau de la membrane externe de *Pseudomonas aeruginosa*. Le diamètre du canal OprF est de 2 nm et permet la diffusion de polysaccharides ayant un poids moléculaire compris entre 2000 et 3000 daltons [44]. OprF possède un rôle structural déterminant dans la morphologie bactérienne et dans la capacité des bactéries à croître dans un milieu à faible osmolarité. Il a été démontré également qu'OprF contribue à l'adhérence bactérienne aux cellules épithéliales pulmonaires et facilite ainsi l'interaction de *Pseudomonas aeruginosa* avec l'épithélium en favorisant la colonisation de l'épithélium respiratoire et l'initiation de l'infection pulmonaire [45].

1.10.2 Facteurs de virulence enzymatiques

A- Exoenzymes à travers le système de sécrétion de type III [46]

Pseudomonas aeruginosa utilise un système de sécrétion de type III qui est un déterminant majeur de la virulence et permet à la bactérie d'injecter ses toxines dans la cellule hôte. Les protéines secrétées via le système de sécrétion de type III (ainsi que via le système de sécrétion de type I) sont transloquées à travers les deux membranes de l'enveloppe cellulaire en une seule étape sans intermédiaire périplasmique. Ce système de sécrétion, provoquant des infections aiguës, nécessite le contact des pili bactériens à la cellule épithéliale pour être activé.

Pseudomonas aeruginosa sécrète quatre exoenzymes à travers le système de sécrétion de type III

- ✿ ExoS, une ADP-ribosyltransférase, nécessaire à la destruction des tissus au site de l'inflammation et à la dissémination bactérienne. ExoS pourrait aussi contribuer à l'inflammation pulmonaire en stimulant la prolifération lymphocytaire [47].
- ✿ ExoT, une exotoxine qui semble interférer avec l'organisation des filaments d'actine, empêche l'exocytose, la progression du cycle cellulaire et la phagocytose [48].
- ✿ ExoU, une toxine nécrotique qui détruit les membranes cellulaires induisant la perméabilité des cellules épithéliales, des macrophages et des fibroblastes [49].

- ✿ ExoY, une adénylate cyclase induisant une accumulation d'AMP cyclique dans les cellules intoxiquées de l'hôte [50].

B- Enzymes protéolytiques (Élastases, protéase IV et protéase alcaline)

Pseudomonas aeruginosa sécrète quatre types de protéases agissant en synergie pour dégrader les protéines et interférer avec le système immunitaire de l'hôte. Ces exoprotéases sont les deux élastases, la protéase IV et la protéase alcaline; toutes ces enzymes ont des substrats protéiques différents.

La contraction et le relâchement du tissu pulmonaire repose sur les propriétés d'élasticité de l'élastine, le composant majeur du tissu pulmonaire. L'activité élastase de *Pseudomonas aeruginosa* est médiée par l'action combinée de deux enzymes protéolytiques, LasA et LasB contrôlé par le quorum sensing. Cette activité conduit à la destruction de tissu pulmonaire. L'élastase LasB est une métalloprotéase à zinc sécrétée par le système de sécrétion de type II, également capable de moduler la réponse immunitaire en inactivant les IgA et les IgG, des composants du complément, la fibrine et le collagène [51]. L'élastase LasA est une protéase à sérine agissant en synergie avec LasB pour dégrader l'élastine. LasA coupe l'élastine, et la rend ainsi plus accessible à l'action d'autres protéases comme LasB et la protéase alcaline et l'élastase du neutrophile [52].

La protéase IV (lysyl endopeptidase) est aussi une protéase à sérine codée par le gène *prpL*. Elle est impliquée dans la dégradation de nombreuses protéines comme le fibrinogène, la plasmine, le plasminogène, l'immunoglobuline, les composantes du complément et l'épithélium cornéen [53].

La protéase alcaline est une métalloprotéase codée par le gène *aprA* et contrôlée par le quorum sensing de *Pseudomonas aeruginosa*. Elle constitue la seule exoprotéase sécrétée par le système de sécrétion de type I. Elle dégrade efficacement les composantes du complément ainsi que les cytokines impliquées dans la réponse immune et inflammatoire comme l'INF- γ et le TNF- α [54].

C- Enzymes lipolytiques (Lipase, estérase et phospholipase C)

Le système lipolytique de *Pseudomonas aeruginosa* comprend trois enzymes; la lipase A, l'estérase A et la phospholipase C qui hydrolysent les esters de glycérols des acides gras à chaîne longue et à chaîne courte [55]. Ces activités enzymatiques permettent à la bactérie d'utiliser une panoplie de substrats lipidiques.

Par définition, les lipases sont les carboxylestérases catalysant la formation et le clivage des acylglycérols à chaîne longue. Le rôle de lipases microbiennes dans la pathogénie et dans la formation de biofilm a déjà été démontré [56]. La lipase A de *Pseudomonas aeruginosa* est sécrétée via le système de sécrétion de type II et hydrolyse les esters carboxyliques des acides gras à chaîne courte, insolubles comme triéoyl glycérol et p-nitrophénylpalmitate. La pré-lipase cytoplasmique contient une séquence signal typique permettant l'exportation via la machinerie. Dans le périplasme, la lipase adopte une conformation active assistée par la chaperone intermoléculaire spécifique Lif et par les catalyseurs accessoires non spécifiques incluant les protéines Dsb qui catalysent la formation des ponts disulfures. Une fois active, la lipase est transportée dans le milieu extracellulaire via la machinerie de sécrétion très complexe Xcp composée de 12 protéines différentes. La régulation de l'expression de la lipase de *P. a* est complexe et partiellement connu. Le régulateur global GacA active la transcription du régulateur de quorum sensing RhlR qui à son tour active la transcription du système de régulation à deux composantes LipQ/R et qui répond à des stimuli environnementaux inconnus [57].

L'estérase de *Pseudomonas aeruginosa* est attachée à la membrane externe; le domaine catalytique est exposé à la surface et hydrolyse de préférence les acyl thio- ou oxyesters à chaîne longue. L'estérase A de *Pseudomonas aeruginosa* est la première enzyme identifiée dans la membrane externe excrétée dans le milieu extracellulaire via la machinerie du système de sécrétion de type IV.

Les phospholipases sont des enzymes extracellulaires thermolabiles [58]. Trois phospholipases C ont été identifiées chez *Pseudomonas aeruginosa* avec une spécificité de substrat différente [59].

La première phospholipase C est non-hémolytique dénommée PlcN et hydrolyse la phosphatidylcholine et la phosphatidylsérine. La deuxième phospholipase C est hémolytique et appelée PlcH [60]. Il s'agit d'une enzyme multifonctionnelle puisqu'elle hydrolyse la phosphatidylcholine et la sphingomyéline mais possède également une activité sphingomyéline synthase [61]. Finalement, la troisième phospholipase C dénommée PlcB hydrolyse phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylcholine. Les PlcN et PlcH agissent préférentiellement sur la phosphatidylcholine et permettent la colonisation bactérienne des poumons. La PlcB est impliquée dans la mobilité bactérienne de type twitching chez *Pseudomonas aeruginosa* suivant un gradient de dérivés de la phosphatidyléthanolamine et de la phosphatidylcholine [62].

Une activité synergique de la lipase A et la phospholipase C hémolytique PlcH de *Pseudomonas aeruginosa* mène à la dégradation complète du principal surfactant pulmonaire, le lipide dipalmitoylphosphatidyl-choline [57].

D- Pyocyanine

La pyocyanine est un pigment bleu sécrété par la bactérie et impliqué dans de nombreux mécanismes de pathogénicité [63]. Elle réprime la réponse immunitaire de la cellule hôte, induit l'apoptose des neutrophiles [64] et induit la production d'IL-8 [65].

Son importance dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* a été démontrée lors d'infections sur modèle animal [66]. Ses propriétés oxydoréductrices lui permettent d'oxyder la glutathione, d'inactiver la catalase des cellules épithéliales bronchiques et ainsi de participer aux lésions liées au stress oxydatif [67].

E- Pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore jouant également un rôle important dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* [68], notamment par régulation de l'expression d'autres facteurs de virulence comme l'exotoxine [69].

1.10.3 Biofilm [70]

A- Définition

La définition d'un biofilm a beaucoup évolué depuis sa découverte attribuée à Van Leeuwenhoek au 17^{ème} siècle. En effet, il aurait observé, pour la première fois, en utilisant son microscope certes primitif, des micro-organismes adhérents à la surface des dents. Plus récemment, les travaux de Claude E. Zobell, un des pionniers de la recherche sur les biofilms, ont grandement contribué à l'élaboration du concept d'attachement bactérien.

Les chercheurs sont toujours en désaccord sur certains points mais une définition communément admise est celle de Donlan et Costerton (Donlan et Costerton, 2002) « un biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules attachées de manière irréversible à un substrat, une interface ou tout simplement entre elles, enrobées d'une matrice extracellulaire de substances polymériques (en général d'exopolysaccharides) qu'elles ont elles-mêmes produites et qui présentent un phénotype particulier en terme de taux de croissance et de transcription de gènes.

Les surfaces pouvant servir de support peuvent être de différentes natures : roches, canalisations plastiques ou métalliques, muqueuses de l'organisme (cas de *Pseudomonas aeruginosa* dans les alvéoles pulmonaires de patients atteints de la mucoviscidose)

Les biofilms se forment ainsi à l'interface surface/liquide, mais peuvent également être observés à l'interface air/liquide. Les flocs ou agrégats sont également considérés comme des biofilms.

La structure du biofilm est renforcée par la matrice extra-cellulaire d'exopolymères, constituée essentiellement d'exopolysaccharides (EPS) : l'alginate chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Cette matrice englobe d'autres molécules de nature organique et inorganique, jouant également un rôle dans la résistance aux stress environnementaux, par exemple l'ADN extracellulaire, les protéines et les rhamnolipides.

Cette matrice représente 85% du volume total et permet au biofilm de conserver une grande plasticité. Au sein du biofilm, les bactéries sont regroupées en microcolonies séparées par des canaux aqueux. Ce réseau de canaux assure le transport du dioxygène et des nutriments ainsi que l'évacuation des déchets.

Ainsi, les constituants solubles capables de diffuser à travers la matrice peuvent être utilisés par les bactéries. Un gradient de nutriments et de dioxygène est observable depuis le sommet du biofilm jusqu'à sa base où règne un micro-environnement anaérobie.

Cette observation conforte l'idée selon laquelle l'état métabolique d'une bactérie à l'intérieur d'un biofilm dépend de sa localisation au sein de la structure.

Le mode de développement en biofilm est pour le micro-organisme un moyen de lutter pour sa survie dans un environnement hostile. En effet, cette organisation présente de nombreux avantages.

Tout d'abord, et bien évidemment, celui de la protection vis-à-vis de l'environnement.

En effet, comme il a été expliqué plus haut, la population bactérienne est enrobée d'une matrice composée principalement d'EPS qui fait partie intégrante de l'organisation structurale du biofilm. Il a été montré que la matrice d'EPS pouvait physiquement empêcher l'entrée de certains agents antimicrobiens à l'intérieur du biofilm, en agissant comme un échangeur d'ions par exemple, et ainsi réduisant la diffusion de composés depuis le milieu extérieur vers l'intérieur du biofilm. Il a également été montré que le mode de développement sous forme de biofilm protégeait de différents stress environnementaux comme les radiations ultra violettes, la présence de métaux lourds, les variations de pH, les chocs osmotiques et la dessiccation, la phagocytose et contre plusieurs antibiotiques et agents antimicrobiens.

Une autre caractéristique peut être celle de la coopération métabolique. En effet, il est très fréquent de trouver différentes espèces au sein d'un même biofilm. Leur proximité facilite les échanges de substrats et l'évacuation ou la distribution de produits métaboliques. Les biofilms fournissent un environnement idéal pour l'établissement de relations syntrophiques (symbiose particulière où deux types de bactéries métaboliquement différents dépendent l'un de l'autre pour utiliser certains substrats).

B- Formation du biofilm

Un modèle de formation du biofilm communément admis chez *Pseudomonas aeruginosa* est présenté dans la figure 19. Il comporte quatre étapes : l'adhésion dite réversible, l'adhésion irréversible, la maturation et le détachement.

Pour aboutir à l'étape d'adhésion réversible, la bactérie doit dans un premier temps approcher le support. Des mécanismes dans lesquels la cellule n'est pas active interviennent :

Mouvement brownien, sédimentation et transfert de masse par convection, mais aussi des mécanismes où la cellule est active comme le chimiotactisme et la mise en place d'appendices générateurs de mouvement tels que les flagelles. Cette approche conduit à un attachement transitoire pendant lequel la bactérie va chercher à «évaluer » la surface sur laquelle elle se trouve. A ce stade (entre 20 et 50 nm du support), l'adhésion dite réversible, est due aux forces de Van der Waals, aux forces acide-base de Lewis et aux forces électrostatiques. Les bactéries peuvent alors être remises en suspension sous l'effet des mouvements browniens, des forces de cisaillement du flux de liquide ou encore de la mobilité intrinsèque des cellules.

Dans un deuxième temps, une association stable avec la surface s'établit grâce à des structures adhésives telles que des adhésines filamenteuses (fimbriae, pili) ou non (EPS, capsule,...) et à la mise en place de nombreuses liaisons de faible énergie comme les liaisons hydrogène, hydrophobes et les liaisons ioniques.

L'attachement irréversible établi, des micro-colonies vont pouvoir se former. Les bactéries adhérees vont se multiplier et synthétiser une matrice extracellulaire d'EPS dans laquelle elles se retrouveront incluses.

Le biofilm va ensuite entrer en phase de maturation. C'est lors de cette étape qu'il va prendre la forme de « champignon », caractéristique chez *Pseudomonas aeruginosa*, et que le réseau de canaux aqueux va se mettre en place.

Enfin vient l'étape de détachement au cours de laquelle des cellules vont être libérées sous forme planctonique pour la colonisation de nouvelles surfaces.

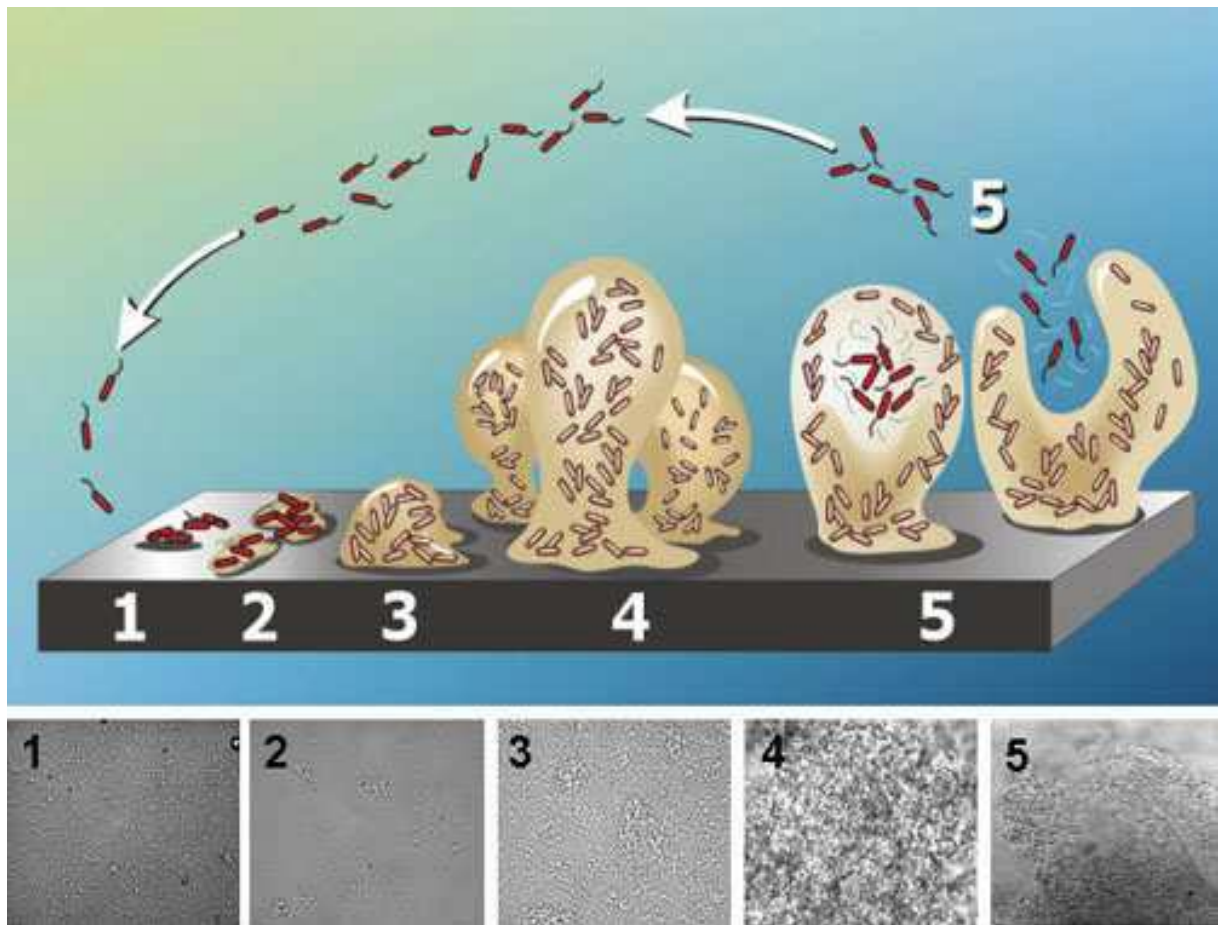


Figure 19 Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* et visualisation par microscopie à transmission 1 adhésion réversible, 2 adhésion irréversible/formation de micro-colonies, 3 et 4 maturation, 5 déta

1.11 Régulation de l'expression des facteurs de virulence ou « Quorum sensing » [72]

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste responsable de diverses infections nosocomiales. L'expression des gènes de virulence au site de l'infection joue un rôle dans la physiopathologie de ces infections. La transcription de nombreux gènes de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* est sous le contrôle d'un mécanisme de régulation dépendant de la densité bactérienne, appelé quorum-sensing (QS). Deux systèmes de QS, nommés las et rhl, ont été identifiés chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Chaque système se définit par un couple composé d'une protéine régulatrice et d'une enzyme autoinductrice LasR/LasI pour le système las et RhIR/RhII pour rhl. L'enzyme autoinductrice contribue à la synthèse de petites molécules, les acylhomosérine lactone (AHL) qui diffusent facilement de bactéries à bactéries. Lorsque le taux d'AHL atteint un seuil critique, les AHL se lient à la protéine régulatrice. Le complexe ainsi formé active la transcription de plusieurs facteurs de virulence. Cette activation permet d'amplifier et de synchroniser la virulence à l'ensemble de la population bactérienne (figure 20). Les AHL possèdent une activité immunomodulatrice propre qui joue aussi un rôle dans la physiopathologie de l'infection. Le rôle du QS a été démontré expérimentalement sur différents modèles animaux d'infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Chez l'Homme, l'expression du QS et la présence d'AHL ont été détectées dans des prélèvements respiratoires de patients atteints de mucoviscidose et infectés à *Pseudomonas aeruginosa*.

L'importance du QS au cours d'autres infections restent encore à démontrer. En conséquence, la connaissance des mécanismes moléculaires du QS offre l'opportunité de développer de nouvelles cibles thérapeutiques dont l'objectif consistera à atténuer la virulence des souches au cours de l'infection.

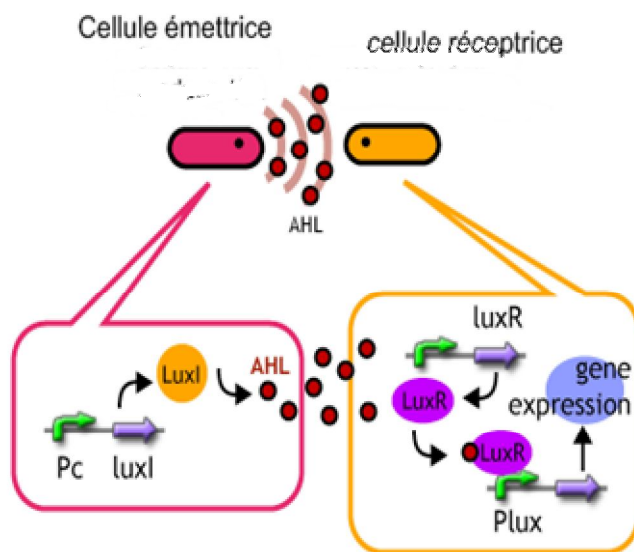


Figure 20 Mécanisme de régulation de la densité bactérienne QS [73]

1.12 Diagnostic biologique [1]

A. Prélèvements

Les prélèvements effectués : Pus, urines, LCR, crachats, sérosités purulentes, sang, expectorations bronchiques.

B. Culture

Pseudomonas aeruginosa se développe facilement sur milieux ordinaires en aérobose stricte. La culture est possible à 41°C. Colonies ont une fluorescence sous lumière ultraviolette, odeur fruitée. Il est mobile grâce à un cil polaire. Pour les prélèvements plurimicrobiens ou surtout pour les isolements à partir des liquides en hygiène hospitalière ou pour le contrôle des eaux, il est bon d'utiliser le milieu sélectif au cétrimide.

Sur les milieux électifs pour entérobactéries, il forme des colonies "lactose -". Le milieu de Kligler en particulier apparaît rouge en surface (lactose -) et inchangé en profondeur (pas de culture en anaérobiose et pas de production d'H₂S). En surface, la culture présente des reflets métalliques assez évocateurs.

Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* (figure 21) sont de trois types

- 1) Les colonies 'la' (large) sont grandes, rugueuses avec un centre plus bombé (colonies en œufs sur le plat) et un bord irrégulier. Très souvent, les colonies 'la' présentent de petites plages d'autolyse donnant un reflet irisé ou métallique caractéristique.
- 2) Les colonies 'sm' (small) sont rondes, petites, convexes et lisses.
- 3) Les colonies muqueuses sont bombées, opaques visqueuses, filantes, ou parfois coulantes. Elles possèdent une pseudocapsule constituée d'alginate.

Les souches isolées de prélèvement cliniques donnent généralement des colonies 'la' alors que les souches isolées de l'environnement donnent le plus souvent des colonies sm. Dans les subcultures, les colonies 'la' donnent souvent des colonies sm alors que la variation inverse est beaucoup moins fréquente. Les colonies muqueuses, les plus rares, sont formées par des souches isolées de l'appareil respiratoire (patients atteints de mucoviscidose) ou du tractus urinaire.

La production de pigment (pyocyanine et pyoverdine) facilite grandement le diagnostic. La production de pyocyanine suffit même à identifier l'espèce mais rappelons que 5 à 10% de *Pseudomonas aeruginosa* sont non pigmentés et 1% produisent un pigment rouge ou noir.

Pour les souches atypiques, le diagnostic peut avoir recours à l'ensemencement d'une galerie API 20NE.



Figure 21 Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* [74]

C. Caractères biochimiques

La production d'oxydase est un caractère d'orientation important. Au besoin, l'auxanogramme permet de différencier l'espèce dans le genre. Aérobiose stricte, mobilité, pigment vert, oxydase + et non fermentation de sucres sont des éléments d'identification importants.

Pseudomonas aeruginosa n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Les milieux MEVAG (Milieu pour l'étude de la Voie d'Attaque des Glucides) ou de Hugh et Leifson sont spécialement destinés à mettre cette propriété en évidence.

D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce Indole (-), urée (-), TDA (-) (tryptophane-désaminase), H₂S (-), gélatine (+), ONPG (-) (orthonitrophényl-galactose),

Nitrate-réductase (+), LDC (-) (Lysine-décarboxylase), ODC (-) (Ornithine-décarboxylase), ADH (+) (Arginine-deshydrogénase).

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

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

D. Sérotypage

✦ Méthodes phénotypiques

Si les méthodes phénotypiques et les données de l'antibiogramme sont adaptées à l'identification et à l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques, elles ne sont pas assez discriminantes pour des études épidémiologiques [75]. En effet, les caractéristiques phénotypiques ne sont pas toujours exprimées ou peuvent varier avec le temps acquisition de résistances ou apparition de souches non ou polyagglutinables avec *Pseudomonas aeruginosa* [76].

La méthode de sérotypage, particulièrement simple, fondée sur la reconnaissance de 17 antigènes lipopolysaccharidiques O différents, est une méthode de typage de première intention toujours valable pour *Pseudomonas aeruginosa*. La souche de référence PAO1, dont le génome a été entièrement séquencé [77], est une souche de sérotype O 5. À partir de deux collections de souches, des chercheurs ont analysé la diversité génétique des régions codant la biosynthèse de l'antigène O ils ont montré que le G + C % des différents gènes codant les sérotypes O est compris entre 46 et 55 alors que le G + C % total de *Pseudomonas aeruginosa* est de 67. Cette constatation suggère une acquisition ancestrale de type horizontal du matériel génétique codant les sérotypes O. [78].

Les sérotypes majoritaires sont O 3, O 6, O 1, O 11. Certains sérotypes sont plus fréquemment impliqués dans des épidémies hospitalières et s'avèrent plus résistants aux antibiotiques O 11, O 12.

✦ Méthodes génotypiques

Ces dernières années, les outils de biologie moléculaire ont permis d'affiner l'épidémiologie descriptive comme la mise en évidence de la diffusion clonale de *Pseudomonas aeruginosa* de sérotype O 12, ainsi que l'évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques. Ils ont également permis de mieux investiguer les sources et réservoirs de ces bactéries ainsi que leurs modes de transmission chez les patients.

Les marqueurs moléculaires à privilégier doivent être hautement reproductibles et discriminants. De plus, ces méthodes doivent être de réalisation aisée et rapide.

Selon la *Society for Health Care Epidemiology of America* [79], l'électrophorèse en champ pulsé (ECP) constitue la méthode de référence pour le typage de *Pseudomonas aeruginosa* [80]. Cette technique est très discriminante, permettant notamment de détecter des variations de l'ordre de 20 % des fragments sur des isolats successifs de *Pseudomonas aeruginosa* collectés pendant deux ans chez des patients atteints de mucoviscidose [81]. D'autres méthodes de typage moléculaire ont été décrites comme les techniques d'amplification génique aléatoire (AP-PCR, RAPD) [82] et la ribotypie. Les techniques d'amplification géniques aléatoires, bien que moins discriminantes que l'ECP, sont des techniques plus rapides qui permettent un premier criblage des isolats. La ribotypie est une technique stable dans le temps, utilisable lors de phénomènes épidémiques et pouvant être automatisée mais son pouvoir discriminant est un peu moindre que l'ECP [83].

La sélection des isolats pour le typage et l'analyse des données (au mieux avec l'aide de systèmes informatiques) doivent être réalisées selon les recommandations internationales [84]. À elles seules, les techniques de biologie moléculaire, bien que performantes techniquement, sont insuffisantes pour permettre une analyse détaillée de l'épidémiologie de ces bactéries hospitalières. En effet, l'interprétation finale des résultats doit absolument prendre en compte l'ensemble des données épidémiologiques, notamment la chronologie d'isolement et le mode de transmission suspecté.

E. Sérodiagnostic [85]

Il n'a guère d'intérêt dans les infections aiguës car l'isolement de la souche est facile mais peut être intéressant pour différencier une infection chronique d'une colonisation occasionnelle, en particulier pour les malades atteints de mucoviscidose. On cherche les anticorps par électrosynérèse, par technique ELISA ou par western-blot en présence d'une "soupe" antigénique, constituée d'un ultrasonat d'un mélange de cultures de plusieurs sérotypes.

F. Réalisation d'antibiogramme [86]

La réalisation d'antibiogramme par diffusion pour *Pseudomonas aeruginosa* ne requiert pas de précautions particulières et peut être aisément réalisée sur le milieu standard de Mueller-Hinton. On veillera simplement à ne pas utiliser un inoculum trop lourd, qui ne permet pas d'obtenir des colonies juste confluentes.

La standardisation de l'inoculum se fait à partir d'une culture en phase exponentielle de croissance (10^9 bactéries/ml) diluée de façon à obtenir 10^5 bactéries/ml.

Les mécanismes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* pouvant associer une diminution de la perméabilité, diverses bêta-lactamases, en particulier la céphalosporinase, et, récemment découverte, une accélération du système d'efflux des bêta-lactamases se traduisant par leur excrétion excessive par la bactérie, expliquent les phénotypes de résistance très divers qui peuvent être observés et il est extrêmement difficile, sur la base des CMI publiées dans la littérature, d'établir une hiérarchie parmi les molécules anti-pyocyaniques existantes. De plus, le contexte épidémiologique, variable d'un hôpital à l'autre et même d'un service à l'autre, rend aléatoire toute prévision de sensibilité. Une revue récente de synthèse, faite le point de l'activité des différents antibiotiques actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*.

La liste des antibiotiques à tester figure dans le **tableau 12**. *Pseudomonas aeruginosa* étant naturellement résistant à de nombreux antibiotiques, en particulier en raison de la production d'une bêta-lactamases chromosomique à bas niveau, toute sensibilité à une aminopénicilline, à une C1G ou C2G doit évoquer une erreur d'identification. Il en va de même face à une sensibilité à la kanamycine, chloramphénicol, tétracycline, triméthoprime, rifampicine ou quinolone de première génération.

Tableau 12 Antibiotiques à inclure dans un antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*

Béta-lactamines	Aminosides	Fluoroquinolones	Autres ou alternatives
Ticarcilline (Ticarcilline +ac. Clavulanique) Pipéracilline (Pipéracilline +	Tobramycine Amikacine Gentamicine Nétilmicine	Norfloxacine Pour les infections urinaires. Ciprofloxacine	Fosfornycine Cefsulodine Céfopérazone Colimycine

Tazobactam)			
Aztréonam Latamoxef			
Céfépime			
Ceftazidime			
Imipénèrne			

Tableau 13 Récapitulatif des phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêta-lactamines

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

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

Les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines (**tableau 13**) sont les suivants

1. Phénotype sauvage Résistance à aminopénicilline, C1G, C2G. Sensibilité à carboxypénicilline, uréïdopénicillines, ceftazidime, ceftriaxone, cefsulodine, céfopérazone, aztréonam, latamoxef, céfépime, imipénème.

2. Phénotype "pénicillinase" Il est lié à la production de bêta-lactamase de type PSE, TEM ou OXA.

Résistance à carboxypénicillines, uréïdopénicillines, céfopérazone, cefsulodine.

Sensibilité à ceftriaxone, latamoxef, aztréonam, ceftazidime, imipénème, céfépime.

3. Phénotypes céphalosporinase hyperproduite (figure 22)

La production de cette enzyme est inductible ou résulte d'une dérégulation stable consécutive à une mutation. L'apparition récente de céphalosporines de 3^e génération beaucoup plus stables aux céphalosporinases tel le céfépime, oblige à différencier deux phénotypes

- "céphalosporinase hyperproduite" modérément résistance à toutes les bêta-lactamines, sauf au céfépime et à l'imipénème ;

- "céphalosporinase hyperproduite» à très haut niveau résistance à toutes les bêta-lactamines sauf à l'imipénème.

4. Phénotype «impermeabilité »

Résistance aux carboxypénicillines, sensibilité variable aux autres bêta-lactamines (uréidopénicillines, cefsulodine, céfopérazone), ceftazidime, céfépime et aztréonam sont souvent actifs.

Sensibilité à l'imipénème.

5. Phénotype «mutant de porine D2 »

Résistance isolée à l'imipénème.

En ce qui concerne les fluoroquinolones, il faut retenir que

- les souches sensibles ou intermédiaires à la péfloxacin, la norfloxacin ou l'ofloxacin sont sensibles à la ciprofloxacine ;

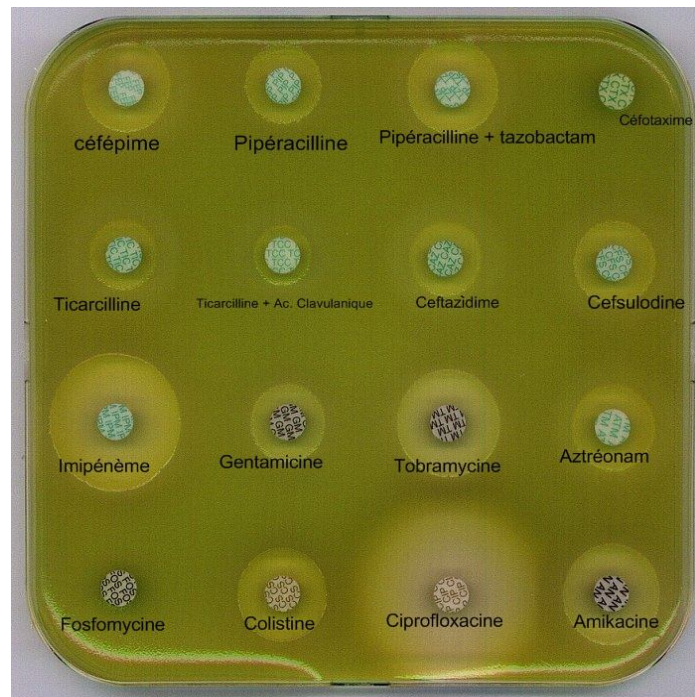


Figure 22 Surexpression de la céphalosporinase chromosomique AmpC, suite à la mutation du répresseur ampD chez *Pseudomonas aeruginosa* [87]

- les souches résistantes à la péfloxacine, la norfloxacine ou l'ofloxacine demeurent sensibles à la ciprofloxacine si la CMI est < 1 mg/l ou pour un diamètre d'inhibition > 22 mm, bien que l'on assiste à une augmentation de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à cette fluoroquinolone qui pourrait évoluer vers un plus haut niveau ;
- leur association avec la fosfomycine peut constituer une alternative clans certaines situations. Les aminosides doivent être testés vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*, leur intérêt reste certain en association avec les bêta-lactamines. La résistance qui a évolué ces dernières années est marquée par des modifications du transport membranaire associées à l'inactivation enzymatique en général codée par des plasmides.

1.13 Stratégies thérapeutiques dans les infections à *Pseudomonas aeruginosa* [88]

Dans l'élaboration de la stratégie thérapeutique devant une infection à *Pseudomonas aeruginosa*, le prescripteur doit se poser 2 questions essentielles : une question qualitative, celle du choix de la molécule ; une question quantitative, celle de la posologie et du schéma d'administration, qui dépendent des objectifs pharmacodynamiques et pharmacocinétiques que l'on se donne. La situation envisagée est celle d'une infection sévère (suspicion de pneumonie nosocomiale chez un patient sous ventilation mécanique, en état de choc et sous corticothérapie au long cours) et du choix de son traitement probabiliste, avant l'obtention des données bactériologiques. Il s'agit d'une situation à très haut risque clinique, grevée d'une mortalité supérieure à 50 % [88]. Il n'est pas besoin de souligner qu'un mauvais choix thérapeutique initial est lourd de conséquences pour le pronostic vital.

1.13.1 Spectre de molécules disponibles

Les bêtalactamines actives sur le bacille pyocyanique sont les carboxypénicillines (TIC), les uréidopénicillines (PIP), associées souvent à un inhibiteur de bêtalactamase (acide clavulanique ou tazobactam) ; certaines céphalosporines (ceftazidime et avec quelques réserves, céfépime) ; l'imipénème ; les monobactames (aztréonam).

L'éventail des possibilités d'antibiothérapie probabiliste est donc large. Le partenaire de la bêtalactamine est de préférence un aminoside (tobramycine, aminoside de référence vis-à-vis du pyocyanique, éventuellement amikacine). En cas de contre indication, le choix peut se reporter sur une fluoroquinolone, la seule active étant la ciprofloxacine. Les autres molécules sont d'usage beaucoup plus restreint et ne sont utilisées en pratique que dans des situations très particulières, au sein d'associations de sauvetage en présence d'une souche multirésistante : polymyxine, fosfomycine, rifampicine.

Le problème se pose en termes différents selon que l'on se trouve en situation de traitement probabiliste ou d'infection documentée, après l'obtention des indispensables prélèvements bactériologiques.

1.13.2. Stratégie probabiliste éléments de réflexion

Dans la définition de la stratégie probabiliste, il faut toujours avoir à l'esprit une donnée essentielle l'administration précoce d'une antibiothérapie adaptée diminue la mortalité d'origine infectieuse. Malgré les difficultés méthodologiques pour le démontrer, ce fait est aujourd'hui admis et appuyé par plusieurs publications concordantes. C'est particulièrement vrai pour les infections les plus graves (intra-cavité, virulence bactérienne, susceptibilité génétique de l'hôte à l'infection).

Il faut tenir compte, à propos de *Pseudomonas aeruginosa*, de l'effet inoculum. La quantité de germes chez un patient grave atteint 10^7 , 10^8 ufc/g de parenchyme pulmonaire voire davantage. Elle est donc bien supérieure à l'inoculum standardisé de 10^5 utilisé dans les boîtes de pétri du laboratoire. Ceci explique certaines discordances entre les résultats in vitro et in vivo. De la même façon, les concentrations sériques doivent atteindre au moins 4 fois les CMI théoriques si l'on veut être efficace in vivo.

Une autre caractéristique particulière du pyocyanique est l'effet de croissance lente. Lorsque la concentration de micro-organismes diminue, les bactéries se divisent plus lentement et s'entourent d'un biofilm qui les rend moins accessibles aux antibiotiques.

Certains antibiotiques sont moins sensibles que d'autres à cet effet imipénème, ciprofloxacine, aminosides. L'antibiotique utilisé doit être doté d'une vitesse de bactéricidie élevée, sous peine de majorer le risque d'émergence de mutants résistants. Ce risque est d'autant plus élevé que l'inoculum initial est important. Par exemple, avec les bêta-lactamines seules, le pourcentage d'émergence de mutants résistants est de l'ordre de 20 %, ce qui est considérable. Il en résulte la nécessité de recourir d'emblée à une bithérapie à fort potentiel bactéricide.

1.13.3. Composition de la bithérapie

L'association idéale est celle d'une molécule concentration-dépendante, d'action rapide, à une autre temps-dépendante, d'action prolongée. Si les 2 antibiotiques ont des mécanismes de résistance différents et que le risque pour chacun d'eux est de 10^{-7} , le risque d'émergence de mutants résistants avec l'association n'est plus que de 10^{-14} .

C'est le cas par exemple pour l'association d'imipénème et de ciprofloxacine. De la même façon, l'adjonction d'un aminoside à une C3G divise par 3 le risque de sélection de mutants résistants. Tout se passe comme si la molécule concentration-dépendante, en assurant une bactéricidie rapide, restaurait l'activité de la bêtalactamine, temps-dépendante, en lui ouvrant la voie et en lui laissant le temps d'agir pleinement. Pour l'association avec la bêtalactamine, on a théoriquement le choix entre un aminoside et la ciprofloxacine. La préférence doit toutefois être donnée chaque fois que possible à l'aminoside. D'une part, le risque de résistance secondaire est plus faible. D'autre part, sachant que l'on se trouve en situation probabiliste, la ciprofloxacine est un mauvais choix, car la proportion de souches résistantes en réanimation est trop élevée, de l'ordre de 50 %, au lieu de moins de 40 % pour les aminosides. À moins que la situation locale des résistances bactériennes ne le justifie, il faut donc préférer l'aminoside.

1.13.3.1. Choix de l'aminoside

La tobramycine est l'aminoside de référence vis-à-vis du pyocyanique, avec les CMI 50 et 90 les plus faibles de la famille. Cependant, lorsque la décision est probabiliste, il faut préférer l'amikacine. La probabilité de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* est en effet la même que pour la tobramycine, d'environ 60%, mais le spectre est plus large, ce qui diminue le risque d'antibiothérapie initiale inadaptée.

1.13.3.2. Choix de la bêtalactamine

Le choix probabiliste de la bêtalactamine doit tenir compte des facteurs de risque locaux de résistance et notamment de l'antibiothérapie préalable chez le patient (la durée des antécédents à prendre en compte restant mal définie), de la durée d'hospitalisation antérieure, de la durée de séjour dans l'unité de soins intensifs. Concernant l'antibiothérapie antérieure, les données de la littérature sont parfois difficiles à interpréter, mais le risque de résistance paraît particulièrement important en cas de traitement antérieur par l'imipénème.

La probabilité de résistance des souches varie d'un service et d'un établissement à l'autre. Certaines circonstances particulières s'accompagnent d'un risque augmenté de résistance à certaines bêtalactamines.

L'antibiothérapie récente en est l'élément essentiel. Les résultats sont cependant variables, voire contradictoires, selon les études.

Au total, en l'absence de facteur de risque particulier, on a le choix entre la ceftazidime, l'association pipéracilline tazobactam et l'imipénème. Il faut bien sûr tenir compte aussi de l'épidémiologie locale. En présence de facteurs de risque d'une souche hyperproductrice de pénicillinases céphalosporinase et notamment en cas d'exposition antérieure à une C3G ou une carboxy/uréidopénicilline, la préférence doit aller à l'imipénème en première intention.

1.13.4. Modalités d'administration

La posologie et le mode d'administration des antibiotiques sont des éléments majeurs de l'efficacité. Or les caractéristiques pharmacocinétiques des médicaments sont profondément modifiées chez les patients de réanimation. Les infections graves s'accompagnent d'un ensemble de manifestations systémiques baptisé « syndrome inflammatoire de réponse systémique » (SIRS). Les dysfonctions viscérales sont multiples digestives, rénales, hépatiques, respiratoires ; les risques d'interactions médicamenteuses, de modification de la fraction liée aux protéines, d'induction enzymatique sont nombreux. Le volume de distribution est augmenté dans des proportions parfois considérables, ce qui tend à diminuer

La concentration maximale et à augmenter la demi-vie et par conséquent la concentration résiduelle.

Le principal écueil induit par cette variabilité est celui du sous-dosage, source d'échec thérapeutique.

1.13.4.1. Modalités d'administration de l'aminoside

Pour les aminosides, l'accord est à peu près unanime sur l'administration en une perfusion quotidienne courte de 30 min. Les arguments sont plus théoriques que cliniques, mais ils sont solides. La concentration maximale élevée est déterminante pour la bactéricidie des antibiotiques concentrations dépendantes, même vis-à-vis d'un pyocyanique en phase de croissance lente. L'objectif est d'obtenir un rapport C_{max}/CMI de l'ordre de 8 à 10, qui minimise aussi le risque d'émergence de mutants résistants. La dose initiale doit donc être forte 6 à 7mg/kg de masse corporelle pour la tobramycine (pour une C_{max} de 20 à 25 mg l⁻¹) et 20 à 30 mg /kg de masse corporelle pour l'amikacine (pour une C_{max} de 40 à 60 mg l⁻¹).

Il est impératif de vérifier par le dosage que ces valeurs ont bien été atteintes. L'effet post antibiotique, défini par le délai entre l'abaissement de la concentration sérique en dessous de la CMI et la recroissance bactérienne, est de 2 à 4 h in vitro, mais de 2 à 10 fois plus grand in vivo. Enfin, on a montré que la perfusion unique quotidienne était associée à une moindre toxicité rénale et auditive, par diminution des concentrations résiduelles.

1.13.4.2. Modalités d'administration de la ciprofloxacine

La ciprofloxacine se caractérise par une bactéricidie concentration-dépendante, mais un effet post antibiotique beaucoup moins marqué que pour les aminosides. Les objectifs pharmacologiques de réanimation sont d'obtenir un rapport aire sous la courbe/CMI d'au moins 250 et un rapport C_{max}/CMI d'au moins 10. Pour la posologie maximale, c'est à dire de 400 mg toutes les 8 h par voie intraveineuse, il en résulte que la ciprofloxacine ne sera active que sur les *Pseudomonas aeruginosa* de CMI au plus égale à 0,25 mg l⁻¹. Il est donc interdit d'utiliser la ciprofloxacine en monothérapie et déconseillé de la prescrire en situation probabiliste.

1.13.4.3. Modalités d'administration de la bêtalactamine

1.13.4.3.1. Bêtalactamines temps-dépendantes ceftazidime

Les infections graves en réanimation rassemblent la plupart des difficultés thérapeutiques inoculum élevé, CMI hautes, bactéries en croissance lente, présence de biofilms, variabilité pharmacocinétique individuelle importante...

L'objectif pharmacologique est donc plus ambitieux que dans une infection communautaire banale. Il faut obtenir des concentrations circulantes dépassant 4 à 8 fois la CMI pendant 100 % du temps. En cas de traitement discontinu, la concentration résiduelle devrait être >4 à 8 × CMI. En pratique, seules les perfusions continues permettent de remplir ces critères.

La ceftazidime doit donc être administrée en perfusion continue. La dose de charge de 2 g est indispensable pour accélérer l'état d'équilibre et alimenter rapidement le compartiment tissulaire.

La posologie standard de la perfusion continue est de 4g j^{-1} , équivalente à 2 g toutes les 8 h dans le schéma discontinu. Elle permet d'obtenir des concentrations d'équilibre de 25 à 30 mg l^{-1} , adaptées à des CMI de 2 mg l^{-1} , voire au maximum 4 mg l^{-1} . Si la CMI atteint 8 mg/l , il faut prescrire la ceftazidime à la dose maximale tolérée de 6g j^{-1} (ou de $85\text{ mg kg}^{-1}\text{j}^{-1}$), ce qui donne lieu à des concentrations d'équilibre de 40 mg l^{-1} , à peine suffisantes. Il arrive que l'on aille encore au-delà, mais dans des situations extrêmes. Il est hautement souhaitable alors de disposer de dosages sériques et des effets secondaires inhabituels peuvent survenir.

Il est important, pour éviter tout risque d'interférence dans les tubulures, d'administrer la ceftazidime continue sur une voie propre, sans autre médicament.

1.13.4.3.2. Imipénème

La bactéricidie de l'imipénème est à la fois temps et concentration-dépendante, avec un effet post antibiotique ne dépassant pas 2h et un faible effet de l'inoculum. Le schéma de référence est donc de 1 g toutes les 8 h, à adapter en cas d'insuffisance rénale.

1.13.4.3.3. Pipéracilline–tazobactam

Les caractéristiques à prendre en compte sont une bactéricidie temps-dépendante, un effet inoculum significatif, l'absence d'effet post antibiotique. Les injections ne doivent pas être espacées de plus de 6 h. En pratique, le schéma de référence est de 4 g toutes les 6 h. Les dosages sanguins ne sont pas disponibles à ce jour en pratique courante.

1.13.4.3.4. Céfépime

Les caractéristiques sont un peu les mêmes que pour l'imipénème bactéricidie temps- et concentration-dépendante, effet post antibiotique significatif, absence d'effet inoculum. La posologie recommandée en réanimation est donc de 2 g toutes les 8 h.

1.13.5. Modification de l'antibiothérapie après documentation bactériologique

Entre le troisième et le cinquième jour, il faut reconsidérer l'antibiothérapie à la lumière des données de l'antibiogramme. Le principe qui doit guider la prescription est celui de la désescalade thérapeutique en vue du traitement efficace le plus « simple » possible. Il est bien sûr impossible d'envisager toutes les situations possibles, mais des recommandations générales peuvent être faites.

- Dans le cas d'une souche sauvage ou n'ayant qu'une perte de la porine D2, le meilleur choix est la pipéracilline, car elle donne les CMI les plus basses. L'amikacine doit être remplacée par la tobramycine (ou éventuellement la ciprofloxacine).

- Si la souche sécrète une pénicillinase de type PSE (carbénicillinase), il faut utiliser un inhibiteur ticarcilline-acide clavulanique ou piperacilline-tazobactam, avec les mêmes partenaires que ci-dessus.

- En cas de résistance aux inhibiteurs, liée à la production d'une oxacillinase, il faut utiliser (en association comme ci-dessus) la ceftazidime ou même l'aztréonam, dont la spécificité sur les bactéries à Gram négatif offre l'avantage de diminuer la pression de sélection sur les cocci à Gram positif.

- Si la souche hyperproduit d'une céphalosporinase, l'imipénème s'impose, associé de préférence à la tobramycine.

1.13.6. Problèmes particuliers posés par les souches multirésistantes

Les difficultés sont ici majeures et il n'existe pas de consensus. Si les CMI sont compatibles, on peut envisager la ceftazidime à très forte dose en perfusion continue, associée à l'amikacine à fortes doses, mais aussi des antibiotiques de sauvetage comme la fosfomycine (si elle est active) ou la rifampicine. Certaines équipes utilisent des associations de plusieurs bêtalactamines.

1.13.6.1. Aérosols d'antibiotiques

Les antibiotiques en aérosol, comme la colimycine, sont utilisés de longue date et peuvent représenter une solution de sauvetage, bien que les données cliniques soient éparses et pas toujours convaincantes [89]. Des progrès pourraient venir de nouveaux appareils d'aérosolisation à base d'ultrasons, produisant des particules plus petites, pénétrant mieux dans les petites voies aériennes et les alvéoles pulmonaires. Des travaux expérimentaux chez l'animal ont été publiés récemment avec l'amikacine et les données sont encourageantes [90].

1.13.6.2. Colimycine parentérale

Un regain d'intérêt pour la colimycine par voie intraveineuse a été suscité par le travail d'une équipe sud-américaine publié en 1999 [91].

1.13.7. Durée du traitement

La durée de la bithérapie antibiotique doit être suffisante pour réduire l'inoculum bactérien en dessous du seuil de 10^5 ufc/ml à partir duquel le risque de sélection de mutants résistants est écarté et la bêtalactamine est devenue pleinement active. Cet objectif semble pouvoir être atteint après 3 à 5 j, mais il n'existe pas de consensus général, étant donné la difficulté à mesurer l'inoculum. Après ce délai, la bêtalactamine peut être poursuivie seule. Aucune étude clinique n'a été réalisée spécifiquement [92]

1.13.7. Traitements spécifiques [67]

A. Traitement local

Certaines localisations, comme les infections cutanées ou les otites externes, ne nécessitent qu'un traitement local. Cependant, dans les infections cutanées, toute déterision doit être pratiquée sous antibiothérapie par voie générale, du fait d'un risque élevé de dissémination par voie hématogène. De même, la survenue de signes généraux après un pansement doit faire entreprendre, sans attendre les résultats biologiques, une antibiothérapie systématique probabiliste visant *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* résistant à la méticilline.

L'application locale d'un antiseptique (polyvidone iodée ou chlorhexidine) actif sur *Pseudomonas aeruginosa* permet d'accélérer la guérison des folliculites. La prévention des récives consiste à éviter les bains chauds et tourbillonnants (l'oxygénation et le chauffage de l'eau favorisent la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*), à augmenter la concentration de chlore dans les piscines familiales. Dans les cas consécutifs aux épilations, il faut réduire la contamination à partir des gants et des éponges synthétiques ou naturelles par le séchage, ou par la décontamination par de l'hypochlorite de sodium à 10 %.

Pour les intertrigos interorteils, le traitement local avec des antiseptiques actifs sur les bacilles à Gram négatif (chlorhexidine, polyvidone iodée) ou des antibiotiques locaux est habituellement suffisant. Les intertrigos à *Pseudomonas aeruginosa* sont en effet une des indications d'emploi des antibiotiques topiques de la famille des aminoglycosides et/ou une polymyxine comme la colimycine.

Les antibiotiques locaux n'ont pas d'intérêt dans le traitement des ulcères de jambes, et sont très souvent responsables d'eczéma de contact car appliqués sur une ulcération, sous pansement occlusif, pendant une période prolongée, ce qui favorise la pénétration et donc potentialise la sensibilisation au topique appliqué. La présence de signes locaux ou généraux d'infection est justifiable d'une antibiothérapie par voie générale.

Le traitement de base des otites externes à *Pseudomonas aeruginosa* est le traitement local utilisant le plus souvent des gouttes auriculaires antibiotiques (fluoroquinolones). La durée du traitement est habituellement de 7 à 15 jours, à la posologie de deux à quatre instillations par jour. Dans les otites moyennes chroniques à tympan ouvert, le traitement local doit être privilégié.

L'utilisation de première intention de gouttes auriculaires contenant une fluoroquinolone est recommandée. Ce n'est qu'en cas d'échec, peu fréquent en pratique, et en fonction des résultats de prélèvements bactériologiques, que le recours aux aminoglycosides peut se justifier, sans dépasser 10 jours de traitement. L'apparition d'une surdité, d'acouphènes, de vertiges ou de douleur doit faire craindre la survenue d'un accident ototoxique et faire interrompre le traitement. Un traitement par voie générale n'est indiqué qu'en cas d'infection sévère accompagnée de signes généraux et/ou sur un terrain immunodéprimé.

Le traitement des kératites à *Pseudomonas aeruginosa* a été pendant de nombreuses années l'association de tobramycine collyre (14 mg·mL⁻¹) et de pipéracilline ou ticarcilline par voie locale (6 à 12 mg·mL⁻¹), administrées toutes les 15 à 60 minutes durant les 24 à 72 premières heures, puis diminution progressive des doses sur plusieurs semaines.

Actuellement, les fluoroquinolones en collyre sont les seuls agents retenus pour traiter les kératites à *Pseudomonas aeruginosa*. L'utilisation locale de ceftazidime « fortifiée » à la concentration de 50 mg·mL⁻¹ représente une autre possibilité thérapeutique souvent associée aux fluoroquinolones.

B. Traitements spécifiques et antibiothérapie par voie générale

Dans la grande majorité des cas, le traitement antibiotique par voie générale est justifié par la sévérité de l'infection et pour prévenir toute dissémination par voie hématogène.

B.1 Otites externes malignes

L'hospitalisation en urgence est indispensable pour mettre en route un traitement intraveineux associant en général la ciprofloxacine et la ceftazidime, afin d'éviter l'évolution vers les paralysies nerveuses. Après amélioration, ce traitement est poursuivi pendant plusieurs semaines par voie orale (ciprofloxacine), car les récurrences tardives sont fréquentes. Sur un terrain diabétique, la correction de l'hyperglycémie (insulinothérapie) est indispensable, car l'infection tend à déséquilibrer le diabète. Ce n'est qu'en cas d'échec du traitement médical que l'on envisage une chirurgie (pétrectomie) dont le résultat reste souvent médiocre.

B.2 Endophtalmies postchirurgicales

Les endophtalmies postchirurgicales sont des urgences thérapeutiques et leur prise en charge est bien codifiée. L'injection intravitréenne de 2 mg de ceftazidime (1 g de ceftazidime dilué dans 50 mL de NaCl à 0,9 % ; injection de 0,1 mL) est associée à l'utilisation locale de ceftazidime « fortifiée » à la concentration de 50 mg·mL⁻¹, aux fluoroquinolones en collyre et à un traitement par voie intraveineuse avec des antibiotiques qui ont une bonne pénétration intraoculaire comme les fluoroquinolones, l'imipénème et la fosfomycine. Le recours à la vitrectomie peut être nécessaire lorsque le traitement antibiotique est insuffisant pour juguler l'infection.

B.3 Ecthyma gangrenosum

C'est une infection sévère, potentiellement mortelle. Le traitement nécessite une antibiothérapie parentérale adaptée au germe et à l'antibiogramme, le plus souvent ceftazidime + ciprofloxacine, parfois associée aux facteurs de croissance des polynucléaires neutrophiles.

B.4 Pneumopathies nosocomiales

L'American Thoracic Society a proposé un protocole thérapeutique pour la prise en charge des pneumopathies sévères nosocomiales survenant ou non chez des patients ayant des facteurs de risque particuliers. Il a été retenu qu'un aminoglycoside ou la ciprofloxacine devait être systématiquement associé à une pénicilline anti-Pseudomonas avec ou sans inhibiteur des bêtalactamases, à la ceftazidime, à l'imipénème ou à l'aztréonam. En plus du traitement antibiotique par voie intraveineuse, un traitement local par aérosol peut être associé. Deux molécules ont été utilisées pour les instillations par aérosols la tobramycine et la colistine (tableau 15).

Ainsi, la colistine a été utilisée à la posologie de 100 à 150 mg dilués dans 2 mL d'eau pour préparation injectable et 2 mL de sérum physiologique, en nébulisation deux fois par jour. La colistine a été utilisée par voie intraveineuse dans le traitement des infections à *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* multirésistants. Un résultat favorable n'a été obtenu que chez 25 % des 60 patients traités, et des complications rénales ont été retrouvées dans 58 % des cas. La colistine par voie générale ne peut donc pas être recommandée pour le traitement des pneumopathies, et plus généralement des infections à *Pseudomonas aeruginosa*.

B.5 Sinusites maxillaires sur sonde d'intubation

Le traitement consiste à retirer toutes les sondes nasales (sonde endotrachéale et gastrique), à pratiquer une intubation par voie orotrachéale, voire une trachéotomie et à adapter l'antibiothérapie au germe identifié lors du prélèvement. Le drainage des sinus se fait habituellement à l'aide d'un drain d'Albertini mis en place par voie transnasale. En plus des prélèvements, il permet des irrigations pluriquotidiennes avec du sérum physiologique. D'autres mesures thérapeutiques ont été proposées l'antibiothérapie par voie locale et l'utilisation de vasoconstricteurs en instillation nasale.

B.6 Infections urinaires sur sonde vésicale

Une infection urinaire sur sonde en réanimation ne requiert aucun traitement en l'absence de symptomatologie. Lorsque cette infection devient symptomatique, une antibiothérapie adaptée de 5 à 7 jours doit être instaurée. L'intérêt d'une antibiothérapie courte, à dose élevée, reste à évaluer. Une monothérapie avec un produit à forte élimination urinaire sous forme active, comme les fluoroquinolones per os, est en règle générale suffisante.

Le changement de sonde dans un contexte d'infection asymptomatique n'est pas d'un intérêt certain, alors qu'il semble souhaitable, afin d'éradiquer les germes contenus dans le biofilm, si des signes d'infection apparaissent. Il a été proposé de faire ce changement environ 24 heures après instauration d'une antibiothérapie. Devant une bactériurie découverte à l'occasion de l'ablation de la sonde, un traitement antibiotique ne se justifie que si cette bactériurie persiste 2 jours après le retrait de la sonde.

B.7 Méningites postchirurgicales

La ceftazidime à fortes doses (12 g/j) est la molécule la plus utilisée seule ou en association, mais il peut être difficile d'obtenir des concentrations d'antibiotique dans le LCR nettement supérieures à la concentration minimale bactéricide, ce qui peut poser des problèmes thérapeutiques avec certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Les uréidopénicillines et les céphalosporines de 3e génération diffusent mieux dans le LCR que la ticarcilline et l'aztréonam, et parmi les autres familles d'antibiotiques, les fluoroquinolones et la fosfomycine ont une excellente diffusion.

En raison des effets convulsivants de l'imipénème, le méropénème représente un meilleur choix. Les aminoglycosides diffusent mal dans le LCR. Leur utilisation par voie locale, intrarachidienne ou intraventriculaire a été proposée. Les fluoroquinolones atteignent des taux dans le LCR qui représentent 50 à 60 % des concentrations plasmatiques.

B.8 Endocardites

Le traitement associe le retrait du cathéter incriminé à une antibiothérapie par voie intraveineuse adaptée et prolongée. La plus grande expérience clinique concerne l'association de la ticarcilline et d'un aminoglycoside à très fortes doses. La durée du traitement est habituellement de 6 semaines avec une bithérapie pendant 4 semaines, associée éventuellement à la chirurgie si les hémocultures sont encore positives après 15 jours de traitement. Si la poursuite du traitement par voie veineuse est difficile, les fluoroquinolones per os sont utilisables en relais. Éradication du foyer infectieux initial

L'éradication de la porte d'entrée ou du foyer d'origine d'une infection systémique est une urgence. Elle consiste à enlever le cathéter périphérique ou central, et tout dispositif intravasculaire responsable de l'infection (site implantable, pacemaker, dérivation ventriculopéritonéale), à traiter un foyer infectieux (péritonite, abcès profond sous-phrénique, périrénal, ...) avec lavage peropératoire abondant et drainages multiples, en évitant les sutures en milieu septique. Parfois, il peut s'agir de l'ablation d'un matériel d'ostéosynthèse (prothèse de hanche ou de genou) responsable du sepsis.

C. Cas Particulier De La Mucoviscidose

Un consensus européen récent a permis de préciser les modalités de prise en charge des patients atteints de mucoviscidose. Il est hautement recommandé de choisir l'antibiothérapie en fonction du phénotype de résistance des micro-organismes. Ces antibiotiques doivent être donnés à fortes doses, afin de réduire autant que possible le nombre des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* et améliorer la fonction pulmonaire (tableau 16).

Le choix de la voie d'administration optimale pour atteindre des concentrations efficaces dans les voies respiratoires doit être déterminé en fonction des situations cliniques. Ainsi, pour le traitement de fond d'une colonisation primaire ou intermittente, la colistine ou la tobramycine par inhalation sont indiquées en association avec la ciprofloxacine par voie orale.

L'aérosolthérapie, associée ou non à une antibiothérapie par voie intraveineuse, est préférable pour un traitement d'entretien. Toute exacerbation aiguë est à traiter par une antibiothérapie adaptée, le plus souvent par voie intraveineuse. Les souches isolées chez les patients atteints de mucoviscidose sont plus résistantes à l'amikacine et à l'imipénème que les souches isolées hors mucoviscidose. Les bêtalactamines les plus actives sur les souches isolées de patients atteints de mucoviscidose sont le méropénème, la ceftazidime et les uréidopénicillines, suivis par l'aztréonam, la ticarcilline et l'imipénème. Parmi les aminoglycosides, la tobramycine conserve une activité supérieure à l'amikacine et à la gentamicine. Elle reste l'aminoglycoside de choix pour les instillations par aérosols. Environ 60 % des souches restent sensibles à la ciprofloxacine. Enfin, un traitement antibiotique est recommandé pour les patients ayant une infection chronique à *Pseudomonas aeruginosa*, à raison de trois ou quatre cures annuelles par voie intraveineuse ou d'une aérosolthérapie quotidienne utilisant la colistine ou la tobramycine pendant toute l'année [88].

III-2 Réservoir et transmission

Pseudomonas aeruginosa existe à l'état saprophyte dans le sol, dans l'eau et dans la matière en décomposition; animaux et humains infectés; solutions infectées - solutions IV, savons, gouttes ophtalmiques, humidificateurs; l'organisme prolifère dans les milieux humide. Au sein du milieu hospitalier, les services de soins intensifs sont des unités à potentiel endémique élevé pour cette bactérie qui est à l'origine d'environ 18 % des infections nosocomiales contre seulement 6 % dans les services de médecine et de chirurgie [93].

Son réservoir naturel et permanent consiste en des réservoirs hydriques environnementaux dans lesquels cette espèce et les espèces apparentées vivent en société polymicrobienne indépendante de l'homme [94]. Dans un établissement de soin, une étude prospective sur l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa* a permis d'en décrire les réservoirs possibles points d'eau, mains du personnel soignant et patients.

Les prélèvements d'eau réalisés montrent que les robinets de réanimation sont fréquemment contaminés par *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui est confirmé par plusieurs auteurs. En amont et en aval de la canalisation principale d'un service hospitalier, aucune contamination n'a été observée.

Les points d'eau sont plus souvent contaminés à l'intérieur du service principalement ceux pour lesquels aucun protocole de désinfection n'est mis en place. Le point d'eau de lavage des mains des sanitaires à l'entrée du service est régulièrement contaminé par des souches différentes tout au long de l'étude. À partir de ce point d'eau utilisé par de nombreuses personnes, on observe une contamination progressive des points d'eau contigus. Cela pourrait être le témoin d'une rétrocontamination qui se propage à l'intérieur d'un biofilm dans la canalisation puisque aucune désinfection n'est réalisée dans ce secteur. Les points d'eau dans le secteur de réanimation, plus exposés à une contamination à *Pseudomonas aeruginosa* du fait de la proximité des patients et des soignants, apparaissent moins souvent contaminés grâce à une javellisation régulière. Parmi ces points, deux apparaissent contaminés lorsque la désinfection n'est pas réalisée pendant plusieurs semaines [95].

La désinfection des points d'eau permet de réduire leur contamination mais son efficacité n'est que temporaire. Enfin, les mousseurs en étoile devront être détartrés et changés régulièrement [96] et les mousseurs à grille seront supprimés.

De plus, la contamination des mains du personnel soignant à partir de soins réalisés chez un patient infecté alors que les soignants avaient réalisé un lavage simple des mains entre le soin du patient et le prélèvement de mains. Ce lavage des mains n'est donc pas suffisant après un soin chez un patient infecté. L'hygiène des mains doit être renforcée notamment avec l'utilisation des produits hydroalcooliques pour réduire la transmission croisée le plus souvent manuportée par le personnel soignant de patient à patient. Même si la contamination croisée entre l'environnement et les patients par l'intermédiaire des mains du personnel a été démontrée, il est difficile de connaître le sens de la chaîne de transmission. Elle peut s'effectuer à partir des mains des soignants et de l'environnement contaminés ou à partir des patients infectés ou colonisés [97].

III-3 Réceptivité [98]

Pour un micro-organisme, le pouvoir invasif est l'aptitude à adhérer un organisme humain ou animal réceptif, c'est aussi le pouvoir de multiplication du germe dans cet organisme. L'aptitude du germe à envahir et à échapper un moyen de défense de cet hôte et à produire des troubles ou des lésions.

L'espèce est un facteur capital de réceptivité. Un organisme réceptif peut ne pas être sensible, c'est-à-dire ne présenter aucun symptôme à la suite du contact avec l'agent pathogène'.

La réceptivité est nécessaire, mais pas suffisante pour l'expression de la sensibilité, elle est une notion qui intéresse tout particulièrement l'épidémiologiste car elle concerne les organismes capables de jouer le rôle de relais ou de source d'agent pathogène.

La réceptivité est exprimée relativement à une dose par rapport à un effet observé dans une population. Elle varie selon des facteurs intrinsèques (propres aux individus) ou extrinsèques (dépendant de leur environnement). Les mesures de prévention médicale (vaccination, chimio-prévention) en constituent une application, par élévation du seuil de réceptivité de la population. La réceptivité n'est pas une notion purement qualitative ; elle peut être traduite quantitativement par le nombre d'unités de l'agent pathogène nécessaires pour déclencher l'installation de l'infection. L'issue de la contamination d'un organisme dépend à la fois du degré d'infectivité de l'agent pathogène et du degré de réceptivité de l'organisme.

Principales étapes du processus infectieux [99]

A- Colonisation

Pour initier l'infection, *Pseudomonas aeruginosa* nécessite généralement une rupture substantielle de la première ligne de défense. Une telle rupture peut résulter d'une violation ou de contournement des barrières normales cutanées ou muqueuses (par exemple, un traumatisme, chirurgie, brûlures graves, ou de dispositifs à demeure), la perturbation de l'équilibre de protection de la flore normale de la muqueuse par antibiotiques à large spectre, ou l'altération immunologique des mécanismes de défense (par exemple, neutropénie chimio-induite, fibrose kystique, le sida et le diabète sucré).

La première étape des infections à *Pseudomonas aeruginosa* est la colonisation de l'épithélium altéré. L'agent pathogène colonise l'oropharynx jusqu'à 6% et est récupéré à partir des fèces de 3% à 24% des personnes saines.

En revanche, jusqu'à 50% des patients hospitalisés sont à haut risque de colonisation par *Pseudomonas aeruginosa*. L'adhésion de *Pseudomonas aeruginosa* à l'épithélium est médiée par les pili de type 4 similaires à ceux de *Neisseria gonorrhoeae*.

Plusieurs autres adhésines non médiées par les pili qui sont responsable de la liaison à la mucine ont été décrites, mais leur rôle dans le processus d'infection reste incertain.

Flagelles, qui sont principalement responsables de la motricité, peuvent également agir comme des adhésines aux cellules épithéliales.

B- De la colonisation vers l'infection aiguë

Pseudomonas aeruginosa produit plusieurs produits extracellulaires qui, après la colonisation peut causer des dommages tissulaires étendus, l'invasion de la circulation sanguine, et la diffusion. Des études *in vivo* ont montré que les mutants produisent l'exotoxine A, élastase, ou protéase alcaline qui sont essentiels pour la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* au maximum, cependant, la contribution relative d'un facteur donné peut varier selon le type d'infection.

Beaucoup de ces facteurs sont contrôlés par des systèmes de régulation impliquant la cellule à cellule ou le Quorum sensing. Nous allons résumer les effets biologiques connus des facteurs les plus étudiés de virulence extracellulaire associée à une infection aiguë par *Pseudomonas aeruginosa*.

Exotoxine A est produite par la plupart des souches de *Pseudomonas aeruginosa* qui causent des infections cliniques. Comme la toxine diphtérique, l'exotoxine A de *Pseudomonas aeruginosa* catalyse l'ADP-ribosylation et inactive le facteur d'élongation, conduisant à une inhibition de la biosynthèse des protéines et la mort cellulaire. Exotoxine A est responsable de lésions tissulaires locales, l'invasion bactérienne, et (éventuellement) l'immunosuppression.

Exotoxine A purifiée est hautement mortelle pour les souris qui soutient son rôle comme facteur de virulence majeur systémique de *Pseudomonas aeruginosa*.

Exoenzyme S est également une ADP-ribose- transférase, mais contrairement à l'exotoxine A, il contribue à la ribosylation préférentiellement des protéines G telles que Ras qui sont impliquées dans la transduction de signaux cellulaires de la hôte. Cette exo-production est responsable de la destruction directe des tissus dans l'infection des poumons et peut être important pour la diffusion des bactéries.

La phospholipase C et rhamnolipide, produites par *Pseudomonas aeruginosa*, peuvent agir en synergie pour décomposer les lipides et la lécithine. Les deux peuvent contribuer à l'invasion des tissus par leurs effets cytotoxiques. Rhamnolipide, un biosurfactant rhamnose contenant glycolipide, a une structure de détergent et est censé pour solubiliser les phospholipides du surfactant pulmonaire, les rendant plus accessibles à un clivage par la phospholipase C. La perte de surfactant pulmonaire peut être responsable de l'atélectasie associée à une infection pulmonaire chronique et aiguë à *Pseudomonas aeruginosa*. Rhamnolipide inhibe également le transport mucociliaire et la fonction ciliaire de l'épithélium respiratoire humain.

Les protéases sont supposées jouer un rôle majeur lors de l'infection aiguë à *Pseudomonas aeruginosa* produit plusieurs protéases dont l'élastase qui est responsable de l'invasion de la bactérie dans les tissus et engendre des infections systémiques, cependant, son rôle dans les infections cornéennes peuvent être considérables.

La capacité de *Pseudomonas aeruginosa* à détruire les protéines d'élastine est un déterminant majeur de virulence lors de l'infection aiguë. L'élastine est une partie importante de tissu pulmonaire humain et est responsable de l'expansion et la contraction des poumons. Par ailleurs, l'élastine est une composante importante des vaisseaux sanguins qui en dépendent leur résilience. L'activité de l'elastase est responsable des hémorragies pulmonaires dues à des infections invasives à *Pseudomonas aeruginosa*.

L'élastase LasB est une métalloprotéase de zinc qui agit sur un certain nombre de protéines, y compris l'élastine. L'élastase LasB est très efficace, avec une activité protéolytique environ 10 fois celle de la protéase alcaline et une activité vers la caséine environ quatre fois celle de la trypsine. L'élastase LasA est une sérine protéase qui agit en synergie avec l'élastase LasB pour dégrader l'élastine. Les deux élastases ont été trouvés dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose lors de l'exacerbation pulmonaire.

Il a été postulé que durant cette phase, les anticorps présents des titres élevés pour neutraliser élastase LasB, ce dernier ne dégrade pas seulement l'élastine, mais aussi de fibrine et de collagène. Il peut inactiver les substances telles que les immunoglobulines humaines G et A, des voies respiratoires du lysozyme, des composants du complément, et des substances impliquées dans la protection des voies respiratoires contre les protéases telles que l'inhibiteur de A-1-protéinase et inhibiteur de la protéinase du mucus.

III-4 Facteurs favorisant l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* [100] [101]

4.1 Facteurs environnementaux

Le développement de *Pseudomonas aeruginosa* ne nécessite pas de facteurs de croissance organiques spécifiques, puisque cette bactérie peut utiliser plus de trente composés organiques. Une preuve de ses besoins minimalistes est sa capacité de croissance dans l'eau déminéralisée. Sa température optimale de croissance est 37°C mais elle est capable de se développer à des températures allant jusqu'à 42°C. Sa tolérance à une large variété de conditions physiques contribue à son succès écologique en tant que pathogène opportuniste. *Pseudomonas aeruginosa* présente cependant une réelle prédilection pour les environnements propices aux moisissures, les sols humides et l'eau.

Or, les spas présentent un taux de matières en suspension relativement élevé (matières organiques notamment) et la température de l'eau qui y est le plus fréquemment rencontrée varie entre 35 et 37°C, ce qui correspond à la température optimale pour la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. Les établissements thermaux, au travers de leurs différentes activités, présentent donc des conditions favorables à la propagation de ce pathogène.

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont très favorisées par la mise en place de matériels invasifs comme les sondes vésicales pour les infections urinaires, les cathéters intravasculaires pour les bactériémies et les sondes d'intubation pour les pneumopathies nosocomiales chez les patients ventilés mécaniquement. Ces dispositifs altèrent les défenses naturelles de l'organisme et créent une brèche qui favorise la contamination de milieux normalement stériles. Ainsi, dans le cas des pneumopathies nosocomiales de réanimation, la mise en place d'une sonde d'intubation court-circuite les barrières anatomiques que sont le larynx et la glotte, annule le réflexe de toux et diminue l'efficacité du tapis mucociliaire. De plus, ces bactéries ont la capacité d'adhérer aux matériaux qu'elles enrobent par un biofilm protecteur. Ainsi, dans une étude portant sur 25 sondes d'intubation des voies aériennes, 96 % d'entre elles étaient partiellement colonisées et 84 % étaient revêtues d'un biofilm bactérien. Dans le cas des infections sur cathéter (intravasculaire, vésical), le retrait du matériel est très souvent nécessaire pour traiter efficacement l'infection.

Un autre facteur favorisant est la rupture des barrières naturelles. Ainsi, les patients gravement brûlés sont à haut risque d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* du fait de l'exposition à l'hydrothérapie, de l'utilisation massive d'antibiotiques et de la diminution des défenses locales (infections musculocutanées et cathétérismes).

Le risque de développer une infection avec ces bactéries est très dépendant du terrain immunitaire sous-jacent. Si *Pseudomonas aeruginosa* est doté de très nombreux facteurs de virulence, ce n'est pas le cas pour d'autres bactéries multirésistantes. Ainsi, le principal facteur prédisposant au développement d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* est la présence d'une immunodépression.

4.2 Populations à risques

Pseudomonas aeruginosa étant un pathogène opportuniste, la gravité des infections engendrées est influencée par l'état immunitaire de l'hôte. Selon les infections causées par la bactérie, il existe des populations plus à risques comme précisés ci-après (tableau 14)

Tableau 14 Maladies causées par *Pseudomonas aeruginosa* et populations à risques associées

Pathologies	Population à risques
Endocardites	Utilisateurs d'intraveineuses
Infections respiratoires	Personnes à affections respiratoires ou du système immunitaire, cancéreux
Septicémies	Immunodéprimés, diabétiques, sidéens, brûlés sévères
Infections du système nerveux central	Personnes ayant un trauma crânien, ayant subi un acte chirurgical invasif
Infections auditives	Fréquentation de piscine
Infections oculaires	Néonatal, opérations ophtalmologiques
Infections osseuses et des articulations	Utilisateurs d'intraveineuses, chirurgie du pied
Infections urinaires	Hospitalisation (cathéter, ...)
Infections gastro-intestinales	Immunodéprimés
Infections de la peau et des tissus	Brûlés, trauma, dermatites, humidité (oreilles des nageurs, peau des utilisateurs de bains bouillonnants et de jacuzzi), sidéen, neutropénies

III-5 Aspects épidémiologiques

Chez l'homme, il est l'agent d'infections nosocomiales, notamment dans les services de soins intensifs, les unités de grands brûlés, les services de néonatalogie et chez les patients immunodéprimés.

Au cours de la mucoviscidose, il colonise précocement les voies aériennes et provoque une infection pulmonaire chronique émaillée d'exacerbations aiguës.

Pseudomonas aeruginosa est doté d'un véritable arsenal de facteurs de virulence. Il est associé à une importante morbi-mortalité. Grâce à l'apport des techniques de biologie moléculaire, les études épidémiologiques ont permis de montrer que les infections dues à *Pseudomonas aeruginosa* sont endémo-épidémiques avec une part de transmission croisée non négligeable pouvant atteindre 50% des cas. Néanmoins l'acquisition de cette bactérie est majoritairement endogène, tant en réanimation qu'en milieu de soins. Les épidémies de souches de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes dans les unités de soins intensifs sont souvent associées avec une grande fréquence de mortalité. Les nouveau-nés et particulièrement les prématurés sont potentiellement exposés à un risque élevé pour les infections à *Pseudomonas aeruginosa* dûes à un système immunitaire fragile [103].

Ni l'antibiogramme ni même le sérotype ne sont des marqueurs suffisamment précis pour retracer l'origine et le déroulement d'une épidémie. Le génotypage est devenu la méthode de référence, le plus souvent par électrophorèse en champ pulsé [104].

L'épidémie débute par une phase de colonisation, digestive ou respiratoire le plus souvent. Dans une étude menée en réanimation chez 297 patients colonisés, il a été identifié 353 souches avec 44 génotypes différents, ce qui montre la rareté des souches épidémiques [105]. La contamination était intestinale dans 42 cas, respiratoire dans 37 cas, présente dès l'admission dans 35 cas et acquise dans 44 cas. Dans une étude longitudinale portant sur tous les patients d'un service de soins intensifs, la même équipe s'est intéressée au lien entre colonisation et infection [106]. L'analyse des 10 premiers cas de pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa* acquise sous ventilation mécanique (PAVM) survenus dans cette cohorte montre l'ubiquité de la colonisation 91 prélèvements, respiratoires ou extrarespiratoires, étaient positifs, avec 7 génotypes différents, y compris chez un patient donné.

Ces bactéries saprophytes peuvent coloniser les patients au niveau du nez, de la gorge, du tube digestif et de la peau. Cette colonisation (présence de l'agent infectieux avec ou sans multiplication mais sans réponse inflammatoire de l'organisme) augmente significativement lors de traitement antibiotique et/ou avec la durée d'hospitalisation [107].

III-6 Répartition géographique de *Pseudomonas aeruginosa* [108]

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie omniprésente qui envahit un large éventail d'habitats écologiquement différents du monde entier. Il a été largement rapporté d'être isolés de différentes sources d'eau : eau de rivière, l'eau de mer et ouvert océan. En outre, *Pseudomonas aeruginosa* est assez fréquent chez les animaux et les excréments d'animaux et les matériaux du sol et de légumes. Outre ces habitats plutôt communs, *Pseudomonas aeruginosa* est capable de prospérer aussi dans des habitats extrêmes tels que le dodécylsulfate de sodium. Haute valeur écologique du moins pour certaines souches de cette bactérie ont également été signalées.

IV. Développement d'immunothérapies [115]

Malgré le nombre important de personnes infectées par *Pseudomonas aeruginosa* et l'inappropriation des antibiothérapies, aucun vaccin contre cette bactérie n'est disponible actuellement.

Des vaccins ciblant les LPS ont été testés en différentes phases cliniques. Le LPS purifié est une molécule toxique et pyrogène, caractères dus à sa partie lipidique.

La recherche s'est donc tournée vers la production de vaccins à partir des Opolysaccharides seuls. Comme ils sont variables selon les sérotypes de chaque souche, ce sont des vaccins multivalents qui ont été produits. Pour certains vaccins les alginates ont été ajoutés comme antigène. Ces candidats se sont montrés peu immunogènes, ainsi, pour augmenter l'antigénicité de ces composés, leur greffe à des protéines porteuses est testée.

Une autre cible vaccinale est le flagelle. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la protéine FliC formant le flagelle peut être classée en deux groupes dont les séquences sont différentes. Les flagellines de type-a regroupent des unités hétérogènes tandis que les flagellines de type-b sont homogènes. Une tentative d'élaboration d'un vaccin à partir des deux types d'unité de flagelle (FliC, type-a et b) a été testée. Ces vaccins permettent, en modèle animal la protection des grands brûlés contre l'infection à *Pseudomonas aeruginosa*. En phase clinique la protection engendrée par ces vaccins s'est avérée faible (de l'ordre de 34%).

D'autres essais ciblent les protéines membranaires externes conservées OprF et OprI.

Une protéine de fusion entre ces deux composés membranaires a été testée et génère une protection dans différents modèles d'infection d'animaux. Ce vaccin est actuellement en cours d'essais en phase clinique sur l'Homme.

Un vaccin oral avec des bactéries atténuées (mutantes pour l'AroA, enzyme essentielle de la synthèse des acides aminés aromatiques) est en cours de développement. Mais ces bactéries atténuées gardent suffisamment de virulence.

Des vaccins oraux utilisant des bactéries entières tuées sont en cours d'essai en phase I de tests cliniques.

Des essais d'élaboration de vaccins contre le pili de type IV ont aussi été développés.

Mais les monomères de piline formant cet appendice sont hypervariables d'une souche à l'autre. Une protéine de fusion entre la piline du groupe phylogénétique 1 et l'exotoxine A a tout de même été développée qui a fait ses preuves de protection en modèles animaux contre les infections pulmonaires mais qui n'a pas encore été testée en phase clinique.

La dernière cible des vaccins contre *Pseudomonas aeruginosa* en cours de développement est le système de sécrétion de type III (SST3). Des approches par immunisation active contre la protéine PcrV mais aussi contre la toxine ExoU ont été développées. Ces traitements sont efficaces dans des modèles animaux d'infection pulmonaire. ExoU n'est pas une toxine exprimée par la majorité des souches et ne représente donc pas la cible la plus intéressante. PcrV, quant à lui, est présent dans toutes les souches exprimant le SST3 et sa localisation au cours de l'infection fait de lui un meilleur candidat vaccinal.

V. Infections à *Pseudomonas aeruginosa* [99]

Il n'est pas toujours facile, quelle que soit la localisation de l'infection, de faire la part entre une infection communautaire et une infection acquise à l'hôpital. En effet, l'infection peut se développer chez un patient confronté à des conditions locales ou générales favorables au développement de *Pseudomonas aeruginosa*, qui, dans le contexte communautaire, est habituellement sensible.

À l'inverse, le patient hospitalisé dans un service de soins intensifs peut être contaminé par un bacille multirésistant faisant partie de l'écologie du service, à l'occasion des soins multiquotidiens au niveau de la sonde d'intubation.

Mais que dire des infections qui se développent dans les 24 heures après une chirurgie du thorax pour cancer ? Dans cette situation postopératoire, *Pseudomonas aeruginosa*, dont le patient était porteur, peut, dans ce contexte d'immunodépression liée à l'intervention et à l'anesthésie, coloniser l'ensemble de l'organisme et être à l'origine d'une infection.

De plus, les hospitalisations itératives nécessaires au bilan d'extension de la maladie, et les antibiothérapies probabilistes à large spectre pour traiter un épisode infectieux, sont à l'origine d'une colonisation par des bacilles naturellement résistants et aptes à acquérir de nouvelles résistances, comme *Pseudomonas aeruginosa*. En pratique, si certaines infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont authentiquement communautaires, *Pseudomonas aeruginosa* reste typiquement le prototype de la bactérie acquise à l'hôpital .

V .1 Éléments de physiopathologie

A. Colonisation et infection

La colonisation précède toujours l'infection. Cette colonisation fait le plus souvent suite à une contamination d'origine endogène à partir de la flore fécale du patient. En réanimation, elle a été évaluée comme étant en cause chez 80,8 % des patients ventilés artificiellement.

Ainsi, *Pseudomonas aeruginosa* va s'étendre à l'ensemble du tractus digestif et se développer au niveau de la peau (plis cutanés humides), du CAE, du nasopharynx, du tractus génital. La durée de l'hospitalisation, la pression antibiotique, la diminution des défenses, la rupture des barrières mécaniques cutanéomuqueuses, les manoeuvres instrumentales invasives (cathéter intravasculaire, sondage urinaire ou prothèse endotrachéale) vont favoriser cette colonisation d'origine endogène.

Le manuportage favorise la contamination de l'ensemble du matériel hospitalier. L'humidité des surfaces et la présence de matières organiques vont permettre la multiplication de *Pseudomonas aeruginosa*. En effet, cette bactérie est très résistante dans le milieu extérieur et, dans des conditions favorables, peut persister et se multiplier sur tous les éléments de l'équipement hospitalier, de la robinetterie au ventilateur en passant par les collyres, pommades, savons, voire certains antiseptiques mal conservés.

La contamination du patient peut donc être également exogène directement à partir de l'environnement hospitalier paillasse, éviers, eau du robinet utilisée pour la nutrition entérale, tête de mesure de pression pour étude urodynamique, thermomètre de bain.

Cette contamination peut être croisée par manuportage au cours des soins à partir d'autres patients colonisés ou infectés. La transmission d'un patient à l'autre se fait beaucoup plus par l'intermédiaire du matériel et des objets contaminés que de façon manuportée par le personnel soignant. Ainsi se colonisent la peau, les voies aériennes du patient sous ventilation mécanique, le tube digestif au cours de l'alimentation entérale, les cathéters vasculaires et les sondes vésicales. La prescription d'antibiotiques à large spectre majore cette capacité de colonisation en éliminant la flore saprophyte qui joue normalement un rôle de barrière vis-à-vis de la flore transitoire à laquelle appartient *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Développement de l'infection

Pseudomonas aeruginosa représente habituellement une faible part de la flore de colonisation chez l'homme. La colonisation peut conduire à l'infection lorsqu'il existe une forte charge bactérienne associée à des facteurs favorisant l'expression de la virulence. Elle apparaît à l'occasion d'une effraction cutanéomuqueuse ou d'une diminution des défenses immunitaires de l'organisme. C'est donc essentiellement sur un terrain débilisé que se développe l'infection malade dénutris, brûlés, cancers, hémopathies, corticothérapie au long cours. Les patients polytraumatisés, polyopérés, polytransfusés, polyinfectés sont des populations à risque élevé d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*.

C. Cas particulier de la mucoviscidose et des pneumopathies chroniques

Chez le patient atteint de mucoviscidose, la concentration élevée en NaCl, la déshydratation locale et l'hyperviscosité du mucus entravent les mécanismes de défense et favorisent l'adhésion. *Pseudomonas aeruginosa* ainsi englué dans un mucus hypervisqueux ne peut être éliminé de la surface des voies respiratoires. La colonisation chronique des voies respiratoires déclenche une réaction inflammatoire, avec libération de cytokines comme l'IL8, à l'origine d'un afflux de polynucléaires neutrophiles par chimiotactisme. Les toxines et les enzymes bactériennes, sécrétées lorsqu'un quantum infectieux suffisant est atteint, entraînent des lésions épithéliales et interfèrent avec les défenses immunitaires. Certains des mécanismes de défense mis en jeu viennent même aggraver à la fois l'inflammation et l'importance des lésions (production de complexes immuns, activation du complément, afflux de polynucléaires neutrophiles producteurs de protéases et basophiles producteurs d'histamine).

La sérotonine d'origine plaquettaire participe, elle aussi, à l'aggravation des lésions. Lors des premiers stades de l'infection, les souches ne produisent pas encore d'alginate, ne sont pas encore mucoïdes, et sont généralement sensibles aux antibiotiques habituellement actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Lorsque l'infection devient chronique, plusieurs phénomènes interviennent. Les souches colonisatrices smooth de *Pseudomonas aeruginosa* s'adaptent en produisant de l'alginate. Elles peuvent constituer jusqu'à 80 % de la population bactérienne. La production d'alginate favorise l'adhérence aux cellules épithéliales buccales et respiratoires, altère la fonction mécanique mucociliaire, piège les complexes immuns, protège les bactéries vis-à-vis des cellules phagocytaires et gêne l'accès des antibiotiques à la cellule bactérienne.

La population de *Pseudomonas aeruginosa* est alors constituée de microcolonies entourées d'une masse importante d'alginate, le slime qui augmente encore la viscosité des sécrétions bronchiques, qui piège les exoprotéines bactériennes, les maintenant au contact de l'épithélium. D'autre part, l'existence de variations antigéniques de *Pseudomonas aeruginosa* par modification du LPS ne permet pas la reconnaissance des bactéries par les anticorps opsonisants, pourtant produits en quantité importante.

De plus, les protéases bactériennes deviennent indétectables dans les sécrétions bronchiques où elles ne figurent plus que sous la forme de complexes immuns et entretiennent l'inflammation. Leur présence en grande quantité est considérée comme étant de mauvais pronostic. Ces souches bactériennes, dont la croissance est ralentie et qui sont soumises de façon itérative à une pression antibiotique lors des phases d'exacerbation, deviennent progressivement moins sensibles aux antibiotiques comme les bêtalactamines et les aminoglycosides. De plus, le slime qui les enveloppe freine la diffusion notamment des aminoglycosides.

Des phases d'exacerbations viennent périodiquement aggraver les lésions, modulées par le système complexe de régulation des facteurs de virulence. La proportion des souches immobiles s'accroît, et la présence de mutants auxotrophes est rattachée à l'exacerbation des infections. Les surinfections pulmonaires successives et la prescription d'antibiotiques favorisent cette situation. Une éradication complète de ce pathogène des poumons malades est donc impossible, et toute la stratégie thérapeutique vise à ralentir l'évolution de l'infection tout en préservant au maximum la sensibilité aux antibiotiques.

D. Cas particulier du brûlé

Le patient gravement brûlé est prédisposé à l'infection du fait de la rupture de la barrière précoce humorale et cellulaire non spécifique. Pendant une courte période après la brûlure, la surface de la brûlure reste stérile. Si aucun topique antibactérien n'est rapidement utilisé, les bactéries vont contaminer en surface la peau brûlée dans les 48 heures qui suivent l'accident, et la coloniser progressivement en profondeur jusqu'aux tissus sains. La flore bactérienne présente dans la plaie évolue avec le temps. Habituellement, les cocci à Gram positif (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*) précèdent pendant la première semaine les bacilles à Gram négatif dominés par *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries, qui s'implantent en moyenne vers le 10^e jour.

Pseudomonas aeruginosa trouve dans les escarres des brûlés un milieu propice à son développement. Différents facteurs de virulence interviennent. La fixation de *Pseudomonas aeruginosa* est d'autant plus aisée que les cellules sont lésées et que la fibronectine est altérée au niveau des zones brûlées. De plus, *Pseudomonas aeruginosa* produit des protéases qui favorisent la nécrose et les phénomènes hémorragiques locaux, et qui altèrent directement l'immunité en activant le complément et en clivant les immunoglobulines. Les hémolysines contribuent à l'invasion des tissus par leur effet nécrosant. La leucocidine permet l'invasion des tissus vers la profondeur, et donc la dissémination de l'infection. La morbidité et la mortalité des infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont liées à l'action cytotoxique et nécrotique locale de l'exoenzyme S, et surtout à l'exotoxine A. Cette dernière favorise l'invasion bactérienne et l'infiltration des tissus par les cellules de l'inflammation, ce qui retarde la cicatrisation mais aussi la prise des greffes cutanées. L'action des facteurs de virulence favorise donc l'invasion des zones brûlées par *Pseudomonas aeruginosa*, puis sa dissémination, à l'origine de bactériémies et de syndromes septiques sévères.

V.2 Aspects cliniques

A. Infections communautaires

Pseudomonas aeruginosa peut être impliqué dans certaines infections communautaires. En général, ce sont des infections localisées et souvent associées à un contact avec de l'eau ou des solutions antiseptiques contaminées.

A.1 Patients immunocompétents

Chez le sujet immunocompétent, *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections en général opportunistes, résultant de conditions locales ou générales favorables à son développement.

- *Pseudomonas aeruginosa* est le principal agent responsable des otites externes simples. Au cours des otites externes chroniques et des otites moyennes chroniques associées ou non à un cholestéatome, *Pseudomonas aeruginosa* représente jusqu'à 32,5 % des germes isolés.
- Les infections sur peau saine sont probablement sous-estimées, favorisées souvent par le contact avec des liquides contaminés, par l'humidité et la macération.

Les espaces interdigitaux des pieds sont les plus fréquemment atteints. L'infection se limite souvent à l'épiderme, et se manifeste habituellement de façon brutale par la survenue d'un intertrigo douloureux, érosif, suintant, malodorant, recouvert de sérosités verdâtres. Des balanites inflammatoires et érosives à *Pseudomonas aeruginosa* ont également été décrites. Les prélèvements microbiologiques mettent en évidence *Pseudomonas aeruginosa*, parfois *P. mirabilis*, mais aussi dans 30 % des cas un dermatophyte. Le rôle favorisant de la coïnfection mycosique est expliqué par plusieurs mécanismes : altération de la couche cornée, sécrétion par certains dermatophytes d'antibiotiques qui exercent au cours du temps une pression de sélection favorable à la croissance des bactéries à Gram négatif qui se multiplient, sécrètent des enzymes protéolytiques responsables des érosions douloureuses.

Les folliculites sont des infections des follicules pilosébacés par *Pseudomonas aeruginosa* le plus souvent de sérotype O 11, mais aussi O 3 et O 16. La fréquentation d'une piscine, de bains à remous ou sous pression, de saunas ou la pratique de la plongée sous-marine, la topographie particulière des lésions (maillot de bain, parties latérales du tronc, creux axillaires), le siège sur une zone d'épilation à la cire sont des facteurs pouvant faire évoquer une infection à *Pseudomonas aeruginosa*. Le délai entre la contamination et l'apparition des lésions est de quelques heures à 3 jours. Cette affection peut évoluer sur un mode épidémique et toucher plusieurs personnes à la fois, ayant fréquenté la même piscine ou le même bain à remous peu de temps auparavant. Cette infection est habituellement peu sévère et spontanément résolutive sans traitement spécifique.

– L'onyxis à *Pseudomonas aeruginosa*, favorisé par la macération, s'accompagne d'un périonyxis inflammatoire. Il est connu sous le nom de syndrome des ongles verts du fait d'une coloration brun-vert de l'ongle liée à la production de pigments par *Pseudomonas aeruginosa*. Cette infection de l'ongle peut être primitive, coexister avec une infection à *Candida* ou surinfecter un onyxis inflammatoire.

– La majorité des endophtalmies sont la conséquence d'une lésion traumatique surinfectée. Les atteintes oculaires font le plus souvent suite à des microtraumatismes de la cornée, liés au port de lentilles souples et à une contamination par une eau contenant *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces infections sont également favorisées par une corticothérapie locale, l'utilisation inappropriée d'un anesthésique de contact ou d'un collyre contaminé. L'infection débute classiquement par une kératite, petit ulcère nécrotique accompagné d'une fièvre, de douleurs, d'une hyperémie conjonctivale avec suffusions hémorragiques et cercle périkératique, d'une diminution de la vision (oedème de la cornée), d'une photophobie et d'un myosis. Cet ulcère rapidement extensif peut évoluer vers un abcès de cornée, puis une perforation de la cornée, et entraîner des panophtalmies fulgurantes gravissimes avec fonte purulente de l'oeil en 48 heures.

Pseudomonas aeruginosa est une cause de conjonctivite chez les prématurés ou les enfants de faible poids à la naissance. Cette conjonctivite peut se compliquer d'une atteinte méningée et cérébrale.

– Les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa* sur poumons antérieurement sains sont rares. Depuis 1971, seuls 11 cas de pneumopathie à *Pseudomonas aeruginosa* chez des patients sans antécédent ont été publiés. La mortalité a été évaluée à 33 %. Le facteur commun retrouvé est l'inhalation d'eau contaminée sous forme d'aérosol.

– *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'atteintes digestives parfois épidémiques diarrhéiques du nouveau-né et « fièvre de Shanghaï », dont le tableau est proche de celui de la typhoïde. *Pseudomonas aeruginosa* est isolé chez 10 à 20 % des malades souffrant d'une péritonite communautaire, et dans 13 % des cas d'appendicite chez les enfants n'ayant pas été hospitalisés dans les mois précédents.

A.2 Patients immunodéprimés

Chez le sujet immunodéprimé, *Pseudomonas aeruginosa* peut être à l'origine d'infections aiguës graves.

– L'otite externe maligne est une infection nécrosante du CAE, à point de départ cutané, évoluant vers une ostéite de la base du crâne, voire une méningite. Cette infection met en jeu le pronostic fonctionnel (paralysie des nerfs crâniens VII, IX, X et XI) et vital (environ 50 % de mortalité en cas d'atteinte nerveuse).

Pseudomonas aeruginosa est l'agent quasi exclusivement responsable de cette infection. Ceci conduit à proscrire toute manœuvre traumatique du CAE chez les patients non immunocompétents et à considérer, sur ce terrain, comme potentiellement grave toute infection du CAE, en particulier si l'examen otoscopique montre du tissu de granulation polypoïde.

– L'ecthyma gangrenosum est caractérisé par l'apparition d'une vésicule hémorragique puis ulcéronécrotique. L'aspect final est celui de nodules inflammatoires siégeant préférentiellement au niveau des cuisses, du périnée, du creux axillaire ou des extrémités. Les hémocultures et/ou les prélèvements locaux permettent d'isoler le germe en cause qui est toujours *Pseudomonas aeruginosa*.

– Les septicémies à *Pseudomonas aeruginosa* représentent 10 à 20 % des septicémies à bacilles à Gram négatif. Les portes d'entrée principales sont les bronchopneumopathies, les infections cutanées, les infections sur cathéter, les infections abdominales et urinaires hautes. Elles surviennent sur des terrains débilisés : myélodysplasie, neutropénie, pathologie sous-jacente imposant une antibiothérapie antérieure, corticothérapie générale ou chimiothérapie antitumorale.

L'immunosuppression favorise leur survenue, et elles sont décrites avec une fréquence élevée au cours du syndrome de l'immunodéficience acquise (sida). Le patient est souvent déjà fébrile et neutropénique lorsque les manifestations cutanées exceptionnelles apparaissent. En fait, c'est dans un contexte de céphalées, de fièvre élevée, de diarrhée, que s'installent les signes cutanés évocateurs : vésicules à contenu parfois hémorragique riches en bacilles, ecthyma gangrenosum habituellement localisé dans la région anogénitale ou axillaire [49], cellulite gangréneuse et/ou exanthème maculopapuleux ou nodulaire du tronc, roséoliforme. Plus décalée dans le temps, la cellulite nodulaire est caractéristique des infections septicémiques à *Pseudomonas aeruginosa*.

Les éléments sont inflammatoires (rouges, chauds), parfois fluctuants, mais paraissent habituellement fermes car profondément enchâssés. Ils se localisent au tronc et aux extrémités, et leur incision libère un contenu purulent.

Pseudomonas aeruginosa est habituellement isolé dans toutes ces lésions et dans les hémocultures ; la mise en évidence à l'examen direct de bacilles à Gram négatif en grand nombre au sein de rares polynucléaires neutrophiles évoque une infection à *Pseudomonas aeruginosa*. Le pronostic est grave (mortalité voisine de 50 %) lié essentiellement au terrain, à la maladie sous-jacente, à la localisation primitive et à l'accessibilité ou non du foyer à un geste chirurgical. Le traitement repose principalement sur une antibiothérapie adaptée ; l'association à des facteurs stimulant la multiplication des macrophages et neutrophiles (granulocyte-macrophage colony stimulating factor ou GM-CSF) peut être utile chez les patients neutropéniques.

– Des atteintes endocarditiques et des ostéomyélites sont décrites chez les toxicomanes, liées à l'injection d'eau contaminée avec la drogue. L'endocardite à *Pseudomonas aeruginosa* est fréquente chez l'héroïnomane, souvent polymicrobienne sur valve native, pouvant intéresser le cœur droit comme le cœur gauche. Elle provoque souvent des embolies pulmonaires septiques.

– Chez le sujet contaminé par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont fréquentes et plus souvent d'origine communautaire que nosocomiale (deux tiers des cas) pneumopathies sans septicémie, bactériémies associées à des cathéters vasculaires, à des pneumopathies ou à des infections urinaires, infections des tissus mous, sinusites, otites externes.

Chez ces patients généralement au stade de sida, les principaux facteurs de risques retrouvés sont la présence de cathéters vasculaires, une corticothérapie et une antibiothérapie récentes.

– Les endophtalmies endogènes par dissémination hématogène sont exceptionnelles. Les germes en cause sont principalement des bactéries à Gram positif, seuls 15 cas dus à *Pseudomonas aeruginosa* ont été décrits depuis 1935.

A.3 Autres terrains particuliers

Sur certains terrains, *Pseudomonas aeruginosa* est à l'origine d'infections chroniques.

– Les infections respiratoires chroniques sont caractéristiques de la mucoviscidose. Elles jouent un rôle important dans la morbidité et la mortalité de ces patients. Elles sont la cause d'une mortalité prématurée chez 90 % des patients. Polyposes nasales, sinusites et atteintes bronchopulmonaires sont fréquentes. Les conséquences en sont une hypersécrétion avec obstruction bronchique et distension thoracique, une modification du rapport ventilation/perfusion avec hypoxémie et hypertension artérielle pulmonaire à l'origine d'hémoptysies de moyenne abondance. Après une contamination d'origine communautaire, les infections respiratoires apparaissent dès les premières années de la vie, et quel que soit l'âge. *Pseudomonas aeruginosa* est le plus fréquent des agents pathogènes isolés lors des examens cytbactériologiques des crachats ou des produits de lavage bronchoalvéolaire. Les données épidémiologiques de la Cystic Fibrosis Foundation aux États-Unis, portant sur environ 200 000 patients atteints de mucoviscidose, montrent un taux d'infections à *Pseudomonas aeruginosa* de 29,8 % chez les enfants de 2 à 5 ans, et de 81,3 % chez les patients âgés de 26 à 30 ans.

– *Pseudomonas aeruginosa* est impliqué dans l'étiologie de 3 % des pneumopathies communautaires aiguës graves, et principalement sur certains terrains prédisposants (bronchopneumopathie chronique obstructive [BPCO], dilatation des bronches, VIH). L'existence d'une relation entre le type de germe isolé au cours des BPCO en poussée aiguë et la sévérité des troubles ventilatoires obstructifs a été démontrée. Ainsi, plus le volume expiratoire maximum seconde (VEMS) est altéré (< 50 %), plus l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Hemophilus influenzae* est fréquent chez les patients atteints de BPCO.

B. Infection nosocomiales

Tableau 15 *Pseudomonas aeruginosa* dans les infections nosocomiales

Site anatomique	Fréquence (%)	Place de <i>P. aeruginosa</i> parmi les agents responsables d'infections nosocomiales
Infection pulmonaire	15,3	2
Infection peau, tissus mous	14,5	2
Infection site opératoire	11,5	2
Infection urinaire	8,5	3
Bactériémies	7,6	4
Infection sur cathéters	5,7	3
Tous sites confondus	11	3

Pseudomonas aeruginosa se place parmi les agents étiologiques majeurs impliqués dans les infections nosocomiales. L'enquête multicentrique menée aux États-Unis par le Centre national des infections nosocomiales indiquait qu'entre 1990 et 1992, *Pseudomonas aeruginosa* était le deuxième bacille à Gram négatif et le cinquième agent pathogène en fréquence (9 %), après *Escherichia (E.) coli* (12 %), *S. aureus* (12 %), les staphylocoques à coagulase-négative (11 %) et les entérocoques (10 %).

La responsabilité de *Pseudomonas aeruginosa* était en cause, tous services confondus, dans 8 % des surinfections de plaies opératoires, 10 % des infections pulmonaires et 3 % des septicémies. Parmi les 16 356 micro-organismes isolés lors de l'enquête de prévalence nationale des infections nosocomiales menée en France en 1996, *Pseudomonas aeruginosa* représentait 11 % des microorganismes isolés, à la troisième place, derrière *E. coli* (20 %) et *S. aureus* (16 %).

L'incidence des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* est variable en fonction du site de l'infection, allant de 5,7 % pour les infections sur cathéters, à 15,3 % pour les infections pulmonaires (tableau 8).

Il existe de grandes variations entre les hôpitaux et services. Chez les brûlés par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* est isolé dans 18 % des hémocultures, 38 % des prélèvements urinaires, 35 % des brûlures et 45 % des prélèvements pulmonaires. L'étude un jour de l'European prevalence of infection in intensive care (EPIC) a inclus 10 038 patients hospitalisés dans 147 unités de soins intensifs dans 17 pays d'Europe. Cette étude réalisée en 1992 a montré que 20,6 % des patients étaient porteurs d'une infection nosocomiale, et que *Pseudomonas aeruginosa* était en cause dans 28,7 % des cas, juste derrière *S. aureus* (30,1 %). Ces résultats ont été confirmés en 1995 par une étude réalisée dans 118 unités de soins intensifs de cinq pays d'Europe. *Pseudomonas aeruginosa* représentait 24 % des 9 166 bacilles à Gram négatif isolés.

B.1 En réanimation et unités de soins intensifs

Les patients, souvent immunodéprimés, sont habituellement intubés, ventilés, sondés et porteurs de cathéters périphériques et centraux ; le risque de contamination et d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* est majeur.

a. Infections bronchopulmonaires

Avec un taux de 64,7 %, les infections pulmonaires (46,9 %) et les infections bronchiques basses (17,8 %) se situent à la première place des infections acquises en unité de soins intensifs. *Pseudomonas aeruginosa* est impliqué dans 16 à 34,6 % des infections bronchopulmonaires, et est responsable d'environ 70 % des décès. Dans un contexte postopératoire, *Pseudomonas aeruginosa* est isolé dans 39 % des pneumopathies, devant *Acinetobacter* (28 %).

À la fin de la première semaine d'hospitalisation, plus de 30 % des patients de réanimation sont colonisés par *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui constitue le facteur de risque le plus important d'évolution vers une pneumopathie.

Dans une évaluation prospective réalisée chez 3 688 patients admis en unités de soins intensifs de médecine et de chirurgie, 235 parmi les 420 patients qui ont développé une pneumopathie l'ont constituée moins de 96 heures après l'admission, et *Pseudomonas aeruginosa* était en cause dans 25,1 % des cas, alors que pour les 185 pneumopathies déclarées plus tardivement, *Pseudomonas aeruginosa* était retrouvé dans 38,4 % des cas. Les modes de pénétration de *Pseudomonas aeruginosa* dans les voies aériennes basses sont multiples : fausse route, inhalation d'aérosols infectés, dissémination hémotogène, inoculation directe à travers la sonde trachéale au cours des manoeuvres d'aspiration, micro-inhalations répétées de sécrétions pharyngées.

Chez les patients sous ventilation mécanique, la sonde d'intubation endotrachéale ou la canule de trachéotomie court-circuitent les défenses mécaniques respiratoires et altèrent la fonction mucociliaire. Au cours des bronchopneumopathies acquises sous ventilation artificielle, l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* doit être considéré comme facteur de gravité. En effet, deux études ont montré qu'au cours des bronchopneumopathies à *Pseudomonas aeruginosa*, la mortalité était comprise entre 42,3 et 69 %, alors que la mortalité prévisible calculée à partir du score Apache II était évaluée entre 28,1 et 42,6 %.

b. Infections des sinus

La présence d'un corps étranger (sonde d'intubation, sonde gastrique, ...) chez un patient en décubitus, est à l'origine d'une réaction inflammatoire oedémateuse locale qui favorise le développement d'une infection sinusienne maxillaire, mais aussi dans certains cas, ethmoïdale, sphénoïdale et frontale. Les agents les plus souvent en cause sont les entérobactéries (40 à 50 % des cas), *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter* (4 à 20 %), *S. aureus* (12 à 20%) et les levures (5 à 18 %). Cependant, dans une série de 54 malades sous ventilation mécanique ayant présenté une sinusite, *Pseudomonas aeruginosa* n'a été retrouvé que dans un cas. Pour certains auteurs, une sinusite peut entraîner un écoulement de sécrétions purulentes dans l'oropharynx, et ainsi favoriser l'apparition d'une pneumopathie nosocomiale. Dans une étude rapportant 11 cas de pneumopathies nosocomiales associées à une sinusite, la même bactérie a été retrouvée 10 fois simultanément dans le poumon et dans les sinus.

c. Infections de l'appareil urinaire

Les infections urinaires, avec 17,6 % des infections nosocomiales acquises en réanimation, se situent en deuxième position, mais l'enquête du National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System qui regroupait 200 000 patients hospitalisés en unité de soins intensifs entre 1992 et 1997, a montré que les infections urinaires étaient en augmentation puisqu'elles représentaient 31 % de l'ensemble des infections nosocomiales et venaient ainsi en première position. Dans une étude portant sur 2 691 patients admis en réanimation dont 2 470 nécessitaient la mise en place d'une sonde vésicale, 130 infections urinaires ont été diagnostiquées, et *Pseudomonas aeruginosa* était le deuxième micro-organisme en cause (18 %) après *E. coli* (41,4 %). Ces données sont proches de celles rapportées par les Centers for Disease Control qui en 1992 notaient une fréquence de 12,5 % sur 13 165 échantillons d'urine, et de celles de l'étude EPIC qui la même année rapportait que *Pseudomonas aeruginosa* venait en troisième position avec 18,7 %, juste derrière *E. coli* (22,0 %) et les levures (21,2 %).

d. Infections sur cathéters

Les bactériémies, dont l'origine est le plus souvent un cathéter veineux, représentent la quatrième cause des infections acquises en réanimation. Une étude prospective effectuée dans les services de réanimation de huit hôpitaux français a montré que *Pseudomonas aeruginosa* était associé dans 3 à 6% des infections sur cathéters. Dans cette même étude, la culture de l'extrémité des cathéters centraux était positive avec *Pseudomonas aeruginosa* dans 10,6 %, et celle des cathéters périphériques dans 7 % des cas. Quel que soit le mécanisme de la colonisation (externe, interne ou par voie hématogène), *Pseudomonas aeruginosa* vient coloniser le manchon fibrineux qui tapisse la portion intravasculaire du cathéter, aussi bien sur sa face endoluminale qu'à sa face externe.

B.2 Dans les centres de brûlés

La disparition de la barrière cutanée, associée à un état d'agression majeure, favorise la contamination par *Pseudomonas aeruginosa*, d'autant que l'atmosphère des centres de brûlés est souvent confinée, chaude et humide. Dans ces centres, *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 34,2 % des infections, et les infections pulmonaires y sont majoritaires avec 31,5 % des cas. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 10 % des bactériémies et de 28 % des décès. Une étude rétrospective, réalisée entre 1959 et 1983 et portant sur 5 582 patients consécutifs, rapportait une mortalité de 77 % chez les brûlés bactériémiques à *Pseudomonas aeruginosa*, et une surmortalité estimée à 28 % par rapport à la mortalité prévisible. La fréquence des infections à *Pseudomonas aeruginosa* semble diminuer ces dernières années. Ceci est sûrement le résultat des changements de politiques d'isolement (chambre seule pour tout patient brûlé à plus de 20 % de surface corporelle, cabine d'isolement à flux laminaire, ...), de modifications dans les techniques de soins telles que la suppression encore controversée des bains et des douches, l'utilisation de différents topiques locaux ou d'antibiotiques et la réalisation d'excision-greffe précoce.

Au sein de l'escarre, qui prend un aspect brun foncé ou noirâtre, apparaissent des zones de décoloration violettes et des pigments verts, évocateurs d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*. L'incidence des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* chez le brûlé est d'environ 10 %.

Cette incidence varie en fonction de la surface corporelle brûlée (> 20 %), de la profondeur, de la colonisation et de l'infection des zones brûlées. *Pseudomonas aeruginosa* est retrouvé dans 6 % à 30 % des bactériémies déclenchées par les soins et les actes chirurgicaux.

En dehors des éventuelles et rares lésions métastatiques liées aux bactériémies (endocardites, ecthyma gangrenosum, méningites, ...), les infections à *Pseudomonas aeruginosa* des autres sites sont surtout des infections acquises par contiguïté avec la peau contaminée. Elles intéressent principalement l'oeil (conjonctivite, kératite), l'os et les articulations, les cartilages (chondrites du pavillon de l'oreille). Enfin *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment responsable d'infections nosocomiales (bronchopneumonopathies, infections urinaires sur sonde, infections sur cathéter, ...).

Du fait du risque élevé de sepsis grave face à une infection à *Pseudomonas aeruginosa*, la pratique régulière de prélèvements bactériologiques avec culture et antibiogramme est recommandée, pour orienter une antibiothérapie.

B. 3 Dans les autres services hospitaliers

Les infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* ne sont pas l'exclusivité de la réanimation, des unités de soins intensifs ou des centres de brûlés. On les rencontre également dans les services d'oncohématologie, de pneumologie et de chirurgie. La liste de ces localisations ne peut être exhaustive. En effet, *Pseudomonas aeruginosa* peut être à l'origine de tous les types d'infection, même si certaines localisations sont rares, voire exceptionnelles.

a. Méningites

Rare chez l'adulte, la méningite à *Pseudomonas aeruginosa* est souvent postopératoire à la suite du drainage de liquide céphalorachidien (LCR), post-traumatique (fracture de la base du crâne) ou en relation avec une infection contiguë (sinusite maxillaire). Le tableau clinique est souvent fruste (fièvres, céphalées) et la nuque n'est pas toujours raide. Lors de la ponction lombaire, le LCR est trouble, avec une pléiocytose importante, riche en bacilles à Gram négatif à l'examen direct. Le pronostic est sévère, l'évolution pouvant se faire vers la formation de synéchies et d'une hydrocéphalie à pression haute.

b. Péritonites

Dans une étude portant sur 93 cas de péritonites nosocomiales, *Pseudomonas aeruginosa* n'était impliqué que dans quatre cas. Ces péritonites nosocomiales sont secondaires soit à

- un acte chirurgical le plus souvent digestif, par contamination du champ opératoire ou par lâchage d'anastomoses digestives, qui sont favorisées par l'existence d'une ascite, par la présence de tissus septiques ou ischémiques et par des difficultés techniques à réaliser des sutures étanches ;
- un geste endoscopique (sphinctérotomie de la papille, pose d'endoprothèse biliaire, exérèse de polypes, sclérose de varices oesophagiennes, ...) ou radiologique invasif (cholangiopancréatographie rétrograde, opacification des voies biliaires par voie transhépatique).

Cependant, cette péritonite nosocomiale peut également faire suite à une perforation gastrique ou colique chez un patient traité par des corticoïdes ou autres immunosuppresseurs, sur un grêle radique, sur une colite aiguë grave, ou encore survenir au décours d'un bas débit splanchnique avec ischémie digestive.

c. Endocardites

Les endocardites à *Pseudomonas aeruginosa* surviennent après mise en place de cathéter de Swan-Ganz ou après chirurgie cardiaque. Elles intéressent plus souvent le coeur gauche, et plus souvent les valves aortiques que mitrales. Les signes cutanés sont souvent présents et les embolies cérébrales septiques fréquentes. Le diagnostic repose sur les hémocultures et l'échocardiographie. Le pronostic est redoutable en raison des difficultés de contrôle de l'infection et de l'insuffisance cardiaque liée aux mutilations valvulaires.

VI. Gestion d'une épidémie d'infections à *Pseudomonas aeruginosa* [111] [112]

VI.1 Difficulté de l'investigation

L'investigation d'une épidémie hospitalière doit être conduite avec rigueur et méthode, sous peine de susciter de fausses interprétations et des décisions abusives et inopportunes. Les difficultés rencontrées peuvent être illustrées par un exemple réel d'une épidémie de *Pseudomonas aeruginosa* de sérotype O₁₀ en néonatalogie et en réanimation pédiatrique, 3 septicémies ont été observées, dont une mortelle. Une enquête a aussitôt été ouverte. Des prélèvements multiples ont été réalisés, notamment à tous les points d'eau. La présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans le circuit d'eau a été considérée hâtivement comme la cause de l'épidémie. Des mesures draconiennes et très coûteuses ont été prises pour éradiquer cette souche. Or le sérotype de cette souche était différent de celui de la souche épidémique. La souche de *Pseudomonas aeruginosa* présente dans le circuit d'eau n'était pour rien dans les infections observées et n'avait pas même été responsable d'un seul cas de colonisation.

Un autre exemple plus ancien est celui d'une épidémie sévère d'infections à *Pseudomonas aeruginosa* de sérotype O₁₆ dans un service d'hématologie parisien. La souche épidémique qui était résistante à tous les antibiotiques disponibles a été isolée en l'espace de 5 ans chez 98 patients. Elle a été responsable de 22 bactériémies et de 10 cas de cellulite périnéale nécrosante sévère, ayant nécessité chez les survivants une dérivation intestinale. Dix-sept patients sont décédés du fait de l'infection.

Dans le cadre des enquêtes épidémiologiques, l'étude cas témoins a fait ressortir comme facteurs de risque la sévérité de la neutropénie, le nombre de jours de fièvre et le nombre d'antibiotiques administrés avant le début de la bactériémie. L'enquête bactériologique dans les chambres des patients révèle la présence de *Pseudomonas aeruginosa* O₁₆ dans les siphons des lavabos. Les mesures de désinfection des siphons à l'eau de Javel ont eu pour seul résultat d'endommager définitivement les lavabos, sans enrayer l'épidémie...

Le fait majeur démontré des enquêtes est que la contamination se faisait non pas du lavabo au patient, mais en sens inverse. Plusieurs patients ont été hospitalisés de façon prolongée, avec des périodes de neutropénie, dans des chambres dont les lavabos étaient contaminés sans acquérir la souche.

La stratégie de contrôle de l'épidémie a dès lors été radicalement modifiée. Une liste des patients ayant eu au moins une fois un prélèvement positif a été établie, tenue à jour et transmise dans toutes les unités susceptibles de les accueillir. Ces patients étaient hospitalisés dans des chambres spécialement dédiées (dites « chambres vertes ») et immédiatement isolés de façon draconienne. L'épidémie a pu être enfin contrôlée une fois que tous les patients contaminés sont sortis définitivement du secteur hospitalier (soit parce que leur traitement était terminé, soit du fait de leur décès). L'un des enseignements majeurs de cette épidémie est la très longue persistance de la colonisation pouvant durer de plusieurs mois et jusqu'à 3 ans.

VI.2 Diagnostic positif

Le diagnostic est d'abord clinique, évoqué devant la survenue d'un nombre anormalement élevé de cas dans une unité de lieu et de temps.

En plus de la couleur caractéristique (vert brillant) des plaies infectées, des expectorations, *Pseudomonas aeruginosa* dégage une odeur aromatique spécifique de seringa qui doit attirer l'attention, d'autant que le contexte est évocateur. Les patients particulièrement exposés sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (diabète), et surtout hématologiques ou cancéreuses. Les traitements immunosuppresseurs, les corticoïdes, les antimétaboliques favorisent l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* d'origine endogène. Enfin, le traitement curatif ou préventif des patients à haut risque par des antibiotiques à large spectre contribue largement à l'augmentation de la fréquence des infections à bactéries multirésistantes (terrain, chirurgie, réanimation, ventilation, infection, antibiothérapie préalable, émergence secondaire).

Sur le plan bactériologique, la première étape consiste à comparer les sérotypes et les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées chez les patients.

L'enquête bactériologique sur les cas déjà observés ne doit pas faire négliger l'indispensable démarche épidémiologique descriptive, qui consiste à rechercher des cas qui auraient pu passer inaperçus, non seulement dans le service concerné mais dans les autres secteurs de l'établissement. Les cas incidents doivent être recensés avec précision sur le plan chronologique, de façon à construire la courbe épidémiologique, mais aussi sur les plans du suivi de l'itinéraire des patients et du personnel soignant, de la détermination des facteurs de risque d'infection par l'analyse des facteurs de risque à l'aide d'études de cohorte ou d'études cas témoins. Ces résultats doivent permettre de mettre en place des mesures de contrôle, dont il importe d'évaluer avec précision l'efficacité.

VI.3 Enquête et contrôle de l'épidémie

Dans les épidémies d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*, cette enquête est toujours difficile, comme l'ont montré les exemples précédents, du fait notamment de la longue persistance des colonisations chez les patients, qui rend difficile la détermination de la date d'acquisition du germe. Le contrôle de l'épidémie n'est pas moins difficile, car les réservoirs sont souvent importants, multiples et méconnus.

De plus, tout réservoir de germes n'est pas obligatoirement une source de contamination. La présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans un réservoir de l'environnement ne suffit pas à prouver son implication comme source de l'épidémie.

Les mesures de prévention relèvent de l'hygiène hospitalière. Leur description dépasserait le cadre de cet exposé. On se bornera à souligner l'importance, dans le cas particulier de *Pseudomonas aeruginosa*, d'un détartrage régulier et soigneux des lavabos et des canalisations.

VII. L'apport des différents outils moléculaires dans l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa*

VII.1 Électrophorèse en champ pulsé

L'électrophorèse en champ pulsé (ECP) a été mise au point dans les années 1980. Cette technique est à présent considérée comme la méthode de typage de référence pour les enquêtes épidémiologiques. Les principaux inconvénients de cette technique sont son coût, le temps nécessaire à sa réalisation et la difficulté de comparaison entre les laboratoires. Mais ces inconvénients sont compensés par un pouvoir discriminant important et une bonne reproductibilité intra-laboratoire. Pour définir si deux souches sont génétiquement identiques, proches ou différentes, il est nécessaire d'établir des critères appropriés basés sur l'idée que le concept de clonalité est relatif et non pas absolu. Les critères d'interprétation internationaux doivent être appliqués par tous les utilisateurs de l'électrophorèse en champ pulsé. Le degré de similarité génétique entre les souches peut être quantifié en utilisant un système de bibliothèque de typage. En outre, la digitalisation des données associée à une analyse informatique permet l'étude d'un nombre important de souches lors d'études longitudinales concernant l'épidémiologie moléculaire de *Pseudomonas aeruginosa*. L'ECP demeure la technique de référence pour l'étude épidémiologique locale sur un temps limité. Les stratégies d'investigation des épisodes épidémiques doivent tenir compte non seulement des prélèvements à visée diagnostique mais aussi des prélèvements de dépistage sans lesquels il n'est pas possible de caractériser le niveau d'endémicité de cette espèce bactérienne dans les services de réanimation.

VII.2. Multilocus sequence typing (MLST)

La technique de MLST est basée sur le séquençage de 5 à 10 gènes de ménage, importants dans le métabolisme de la bactérie. Ces derniers sont stables dans le temps, leur taux de mutation est faible. De plus les allèles sont caractéristiques de chaque espèce. Pour

Pseudomonas aeruginosa, la technique de MLST a été développée et mise au point par Curran et al. en 2004 [14], puis modifiée par van Mansfeld R et al. en 2009 [15] ; ce dernier travail tient lieu de référence dans l'étude de cette bactérie. Il est basé sur l'analyse par séquençage nucléotidique du polymorphisme de 7 gènes (*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *noD*, *ppsA* et *trpE*) répartis sur le chromosome bactérien et conservés au cours de l'évolution. L'alignement des séquences d'un locus donné permet de repérer les allèles différents entre eux par des mutations et/ou recombinaisons. Pour chaque souche bactérienne, la combinaison des allèles obtenus à partir de chaque locus sélectionné permet de définir une séquence type (ST) représentant un génotype multilocus. Ces ST sont consultables en libre accès, dans les bases de données centralisées sur Internet ([http //pubmlst.org](http://pubmlst.org)). Les liens entre les différentes souches d'une même bactérie peuvent alors être représentés sous forme d'arbres phylogénétiques. La technique MLST permet également de mettre en évidence les liens phylogénétiques entre les clones. Cette technique, parfaitement adaptée à la macro-épidémiologie, est complémentaire de l'ECP. La figure 1 montre la répartition des différentes lignées de *Pseudomonas aeruginosa* en Europe (figure 23). Des résultats concordants d'études basées sur cette nouvelle approche montrent que quelques clones appartenant à des types MLST bien définis et très épidémiques sont plus susceptibles d'acquérir de la résistance sous l'effet de la pression antibiotique [16,17]. Ainsi du point de vue macro-épidémiologique, l'hypothèse d'une population panmictique (n'importe quelle souche peut devenir résistante puis épidémique dans un environnement très sélectif du point de vue de l'usage des antibiotiques) est remise en cause. Aujourd'hui, il apparaît plus probable que la capacité de diffusion d'un clone détermine sa capacité à acquérir des résistances nouvelles.

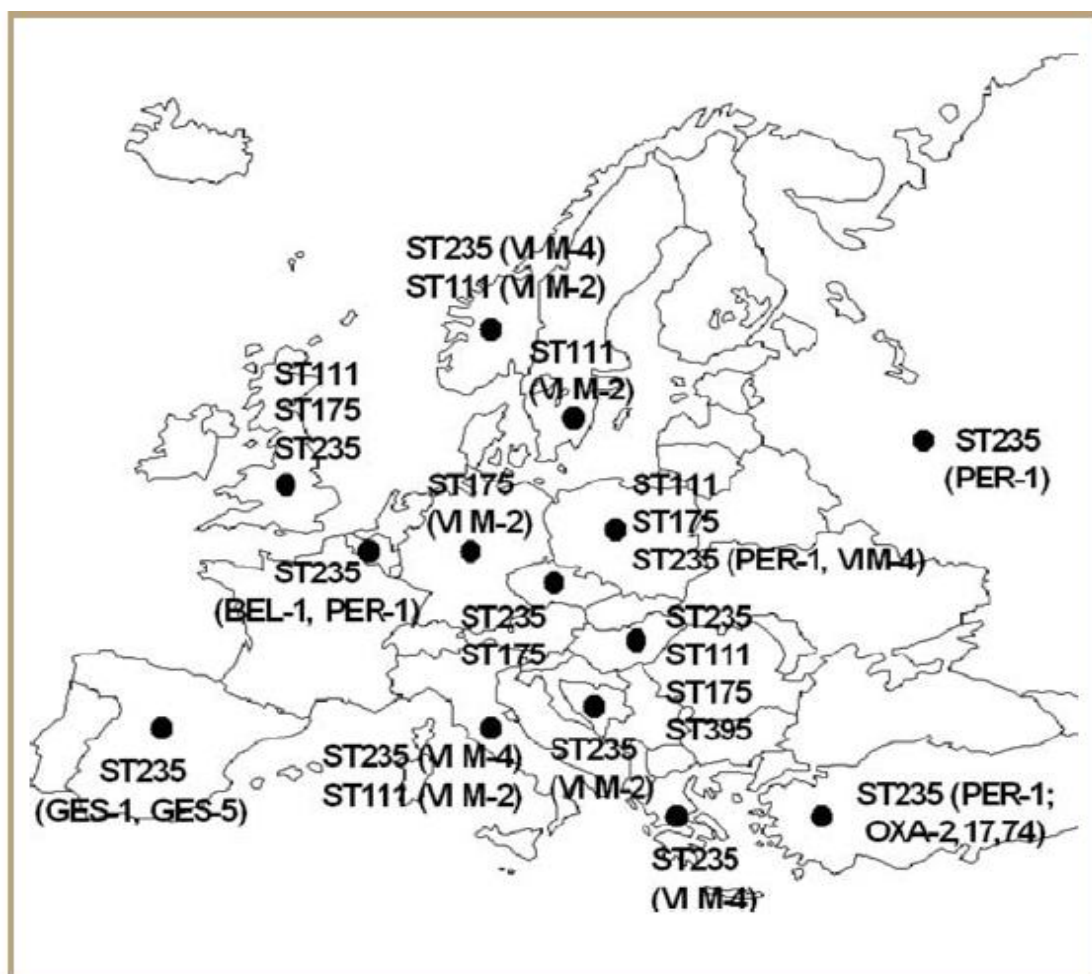


Figure 23 Répartitions de différentes lignées de *Pseudomonas aeruginosa* en Europe

VIII. Hygiène et prévention

VIII.1. Avant l'infection

La prescription d'une antibiothérapie est l'un des principaux facteurs d'émergence de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cette antibiothérapie, qu'elle soit probabiliste ou documentée, peut ne pas être active sur *Pseudomonas aeruginosa*, et contribuer à sa sélection en éliminant les espèces sensibles. Cette antibiothérapie peut être théoriquement adaptée à des souches sensibles de *Pseudomonas aeruginosa*, mais les résistances acquises sont très fréquentes dans cette espèce.

Ainsi, chez les patients porteurs d'une sonde vésicale, *Pseudomonas aeruginosa* est retrouvé dans 5 % des infections urinaires si aucun traitement antibiotique n'est associé, en revanche, il est retrouvé dans 13 % des prélèvements lorsqu'une antibiothérapie est associée [18]. Il en est de même pour les patients sous ventilation artificielle, chez lesquels *Pseudomonas aeruginosa* est retrouvé dans 4,9 % des pneumopathies nosocomiales si aucun traitement antibiotique n'a été prescrit préalablement, alors qu'il est retrouvé dans 40,3 % des prélèvements par fibroscopie bronchique lorsqu'il existe une antibiothérapie préalable [19]. Toute antibiothérapie doit donc être justifiée et raisonnée afin de limiter ce risque. En pratique, les choses ne sont pas toujours simples, car les impératifs cliniques (choc septique) conduisent souvent à instituer une antibiothérapie à large spectre qui ne peut pas toujours être adaptée secondairement, par manque de documentation bactériologique.

VIII.2. INFECTION IDENTIFIÉE

Une fois l'infection déclarée, tout doit être fait pour éviter la transmission de *Pseudomonas aeruginosa* à un autre patient. L'isolement des patients porteurs de bactéries multirésistantes (BMR) est un isolement de type septique, associant un isolement géographique et un isolement technique [20].

Il s'agit d'éviter la transmission croisée d'un malade à un autre en luttant contre le manuportage et en limitant au maximum la contamination de l'environnement et du matériel ; de limiter les phénomènes d'auto-infection, chez les patients colonisés, lors des actes techniques ou des soins (manipulations des voies veineuses, des aspirations trachéales, etc). L'isolement en chambre individuelle, portes fermées en permanence, constitue le standard de l'isolement géographique. L'isolement technique repose sur l'application des mesures faisant barrière à la contamination, dont les protocoles doivent être validés par le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) : lavage des mains systématique ou utilisation de solutions hydroalcooliques en entrant et en sortant de la chambre ; port de gants non stériles à usage unique lors des contacts avec le malade et son environnement ; port de tabliers ou de surblouses à usage unique lors des soins, afin de limiter la contamination des tenues de travail ; port de masque, de lunettes de protection lors des soins et aspirations au niveau des voies aériennes par exemple ; utilisation de matériel individualisé pour chaque patient (thermomètre, brassard à tension, stéthoscope, etc) ; hiérarchisation des soins.

IX- Conclusion

Pseudomonas aeruginosa est un micro-organisme ubiquitaire dont l'habitat naturel est l'eau douce, le sol et les plantes. En milieu hospitalier, la principale source de contamination est le réseau de distribution d'eau et la nourriture (notamment crudités et fruits frais). Comme tous les mammifères, l'homme peut l'héberger de façon plus ou moins transitoire. La littérature médicale et scientifique abonde de publications sur des épidémies de sources très diverses, mais surtout hydriques, y compris des médicaments injectables ou des solutions alcooliques antiseptiques. En réanimation, il faut être particulièrement attentif aux appareils, notamment les humidificateurs, les systèmes d'aspiration, les aérosols, les endoscopes.

L'intérêt de l'épidémiologie bactérienne ne se borne pas à la tenue d'une sorte de comptabilité des germes et de leurs résistances. Elle est importante surtout pour mesurer les évolutions à moyen et à long terme, comprendre leurs causes, anticiper sur les problèmes et si possible mettre en œuvre les mesures permettant de les éviter ou de les résoudre.

L'importance de *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation justifie pleinement sa surveillance épidémiologique non seulement l'évaluation de sa fréquence dans les infections documentées et la surmortalité qui s'y rattache, mais aussi la description des facteurs de risque de résistance, notamment les antécédents d'antibiothérapie chez les sujets atteints.

Les données concernant les infections à *pseudomonas* sont multiples mais encore incomplètes. A ce jour peu de travaux permettent de conclure à la supériorité de la bithérapie ou non. Au regard de la littérature il semble difficile de définir le traitement optimal en cas de bactériémie à *Pseudomonas aeruginosa*. Cette difficulté semble s'accroître en réanimation du fait de la fragilité des patients et des risques de sous dosage induit par des volumes de distribution variables. Une telle inadéquation serait certainement responsable de sélection de mutants résistants voire d'émergence de souches multirésistantes, et probablement responsable d'une surmorbidity voire surmortalité. A ce stade et afin d'éviter des difficultés thérapeutiques futures nous obligeant à utiliser d'anciennes molécules toxiques, quelques recommandations semblent nécessaires.

En maladie infectieuse et plus particulièrement en réanimation l'initiation d'une antibiothérapie est dans la majeure partie des cas empirique (au moins pour les 48 premières heures), il est donc raisonnable d'éviter, si l'écologie locale et le foyer infectieux en cause le permettent, les molécules à haut risque de sélection de mutants (ciprofloxacine, imipénème) et quelque soit la molécule utilisée d'éviter le sous dosage en adaptant les modalités thérapeutiques au terrain et au foyer concerné.

La fréquence et la gravité des infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa* en font un véritable problème de santé publique. Leur traitement, rendu difficile entre autre par l'émergence de résistances impose la recherche d'alternative thérapeutique.

Résumé

Titre Actualités des infections à *Pseudomonas aeruginosa*

Auteur Abdelhakim Elyajouri.

Mots clés *Pseudomonas aeruginosa* – Infection nosocomiale – Bactérie multirésistante

Bacille à Gram négatif, saprophyte de l'environnement hydrique, *Pseudomonas aeruginosa* apparaît aujourd'hui comme un pathogène majeur au sein des établissements de santé, où il est responsable de 10 % des infections nosocomiales, ce taux augmentant jusqu'à 15 % dans les services de réanimation. Le portage endogène à l'admission des patients et l'acquisition des souches en cours d'hospitalisation, soit à partir de l'environnement hydrique, soit par transmission croisée de patient à patient, représentent les différentes voies de contamination précédant la survenue des infections. La dissémination de clones épidémiques précède le plus souvent l'acquisition d'une multi-résistance aux antibiotiques chez un patient donné sous l'effet de la pression de sélection des antibiotiques. L'émergence de souches totorésistantes a récemment compliqué la prise en charge des patients infectés et entraîné une surmortalité inquiétante.

Les infections sévères à *Pseudomonas aeruginosa* nécessitent le recours à une antibiothérapie associant deux antibiotiques synergiques et bactéricides, à des doses élevées pour limiter le risque d'avoir des concentrations minimales inhibitrices trop faibles au site de l'infection, facteur de sélection de souches résistantes. Le choix de ces antibiotiques doit tenir compte de la localisation de l'infection, des atteintes rénales et hépatiques associées, de l'écologie bactérienne du service, de l'antibiothérapie antérieure et surtout des particularités microbiologiques de *Pseudomonas aeruginosa*.

Une fois l'infection déclarée, tout doit être fait pour éviter la transmission de *Pseudomonas aeruginosa* à un autre patient, par la mise en place d'un isolement de type septique associant un isolement géographique et un isolement technique. Pour limiter l'émergence et la diffusion des souches résistantes de *Pseudomonas aeruginosa*, l'épidémiologie locale des résistances acquises doit être surveillée, l'usage raisonné et hiérarchisé des antibiotiques doit être préconisé, ainsi que l'application des mesures d'hygiène hospitalière.

Abstract

Title : Actuality of *Pseudomonas aeruginosa*

Author : Abdelhakim Elyajouri.

Keywords : *Pseudomonas aeruginosa* – Nosocomial infection - Bacteria resistant

Pseudomonas aeruginosa is a Gram-negative bacterium, which natural and permanent reservoir is the hydrophilic environment. It appears today as a major health-care associated pathogen, responsible for 10 % of all nosocomial infections and up to 15 % in intensive care units. Carriage on admission and acquisition during hospitalization either from the water outlets or from cross-transmission between patients are the two ways of contamination preceding occurrence of infections. The spread of epidemic clones precede in most of cases acquisition of multidrug resistance in a patient by antimicrobial selective pressure. The recent emergence of pandrug resistance has complicated the treatment of infected patients and led to an increase in associated mortality.

Severe infections require using a combination of two antibiotics and bactericidal synergistic antibiotics in high doses to reduce the risk of having minimum inhibitory concentrations too low to the site of the infection factor in the selection of resistant strains. The choice of antibiotic should take into account the location of the infection, the bacterial ecology of service and previous antibiotic therapy.

Once the infection is declared, everything must be done to prevent the transmission of *Pseudomonas aeruginosa* to another patient, the establishment of an isolation tank type combining geographic isolation and isolation technique.

To limit the emergence and spread of resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*, the local epidemiology of acquired resistance should be monitored, and a sensible use of antibiotics should be prioritized, recommended and of course application of measures of hospital hygiene.

ملخص

أطروحة : مستجدات حول عدوى الزائفة الزنجارية

المؤلف : الياجوري عبد الحكيم

الكلمات الرئيسية : الزائفة الزنجارية – عدوى المستشفيات – البكتيريا المقاومة للعقاقير.

الزائفة الزنجارية هي بكتيريا سالبة الغرام، مستودعها الدائم والطبيعي هو البيئة المائية. حاليا تعتبر المسؤولة عن 10% من حالات العدوى المستشفوية، وتصل إلى 15% في وحدات العناية المركزة.

يتم اكتساب المرضى للبكتيريا داخل المستشفيات إما من منافذ المياه أو انتقال متبادل بين المرضى. الزائفة الزنجارية لها قدرة كبيرة على اكتساب مقاومة ضد المضادات الحيوية مما يؤدي إلى صعوبة علاج المرضى المصابين وكذلك إلى رفع معدل الوفيات المرتبطة بها.

في العناية المركزة ومراكز الحروق يكون الأشخاص في عرضة حقيقية للزائفة الزنجارية وذلك لضعف مناعتهم وكذلك لخضعهم لعدة أمور طبية مثل المسبار والقسطرة.

الالتهابات الحادة بالزائفة تتطلب منا اللجوء إلى العلاج بالمضادات الحيوية وذلك بدمج مضادين حيويين في آن واحد وأن تكون لهم فعالية كبيرة في القضاء على الجرثوم وبتراكيزات عالية للحيلولة دون الوقوع في تراكيزات منخفضة وهو الشيء الأساس لبلورة مقاومة للزائفة الزنجارية.

يجب الأخذ بالاعتبار في اختيار المضادات الحيوية : مكان الالتهاب، العلاجات السالفة بالمضادات الحيوية وخصوصا ببعض خصائص الميكروبيولوجية للزائفة الزنجارية.

للحيلولة دون انتشار العدوى لسلاسل مقاومة للزائفة، يجب وضع مراقبة وبائية واستعمال منظم ومضبوط للمضادات الحيوية وتطبيق تدابير النظافة الصحية في المستشفى.

Bibliographie

1. **J.P. Euzéby**, Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, site web [http //www.bacteriologie.net/generale/resistanceantibiotiques.html](http://www.bacteriologie.net/generale/resistanceantibiotiques.html)
2. **Cheryl A. Nickerson, Ph.D., Arizona State University**, [http //www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/Microbe.html](http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/Microbe.html)
3. **JM. Pagés, E. Garnotel**, Revue Française des Laboratoires, volume 2003, issue 352, Avil 2003, Pages 57-63.
4. **Provonost M**, [http //mpronovost.ep.profweb.qc.ca/BIONP1/grammoins.jpg](http://mpronovost.ep.profweb.qc.ca/BIONP1/grammoins.jpg)
5. **Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrenner P, Hickey MJ, Brinkman FS, Hufnagle WO, Kowalik DJ, Lagrou M, Garber RL, Goltry L, Tolentino E, Westbrook-Wadman S, Yuan Y, Brody LL, Coulter SN, Folger KR, Kas A, Larbig K, Lim R, Smith K, Spencer D, Wong GK, Wu Z, Paulsen IT, Reizer J, Saier MH, Hancock RE, Lory S, Olson MV**, Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature 2000;406 (6799)959-64
6. **Audrey M.rensa, Herv. Delacoura, Patrick Pl.siatb, Jean-Didier Cavalloc, Katy Jeannotb** REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - SEPTEMBRE-OCTOBRE 2011 - N°435 *Pseudomonas aeruginosa* and antibiotic résistance, Service de biologie médicale, Hôpital d'Instruction des Armées Bégi/ Centre national de référence de la résistance aux antibiotiques/École du Val-de-Grâce
7. **JOLY B. La résistance microbienne à l'action des antiseptiques et désinfectants.** In FleuretteJ, FreneyJ, Reverdy ME éd. Antisepsie ET désinfection. Paris éditions Eska 1995 52-65
8. **Dunne WM Jr. Bacterial adhesion** seen any good biofilm lately. Clin Microbiol Rev 2002 ; 15 155-166

9. **Chuanchuen R, Beinlich K, Hoang TT, Becher A, Karkhoff- Schweizer RR, Schweizer HP.** Croos-resistance between triclosan and antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by multidrug efflux pumps exposure of a susceptible mutant strain to triclosan selects nfxB mutants overexpressionMexCD- OprJ.Antimicrob AgentsChemother2001;45 428-432.
10. **Poole K.** Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol* 2002 ; 31 (suppl) S55-S64
11. **Bagge N, Ciofu O, Hentzer M, Campbell JI, Givskov M, Hoiby N.** Constitutive high expression of chromosomal beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 Nov; 46(11) 3406-11.
12. **Livermore DM.** Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995 Oct;8(4) 557-84.
13. **Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P.** Ambler class A extended-spectrum betalactamases in *Pseudomonas aeruginosa* novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Aug;47(8) 2385-92.
14. **Curran B, Jonas D, Grundmann H, et al.** Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2004. 42 5644-9.
15. **Van Mansfeld R, Willems R, Brimicombe R, et al.** *Pseudomonas aeruginosa* genotype prevalence in Dutch cystic fibrosis patients and age dependency of colonization by various *Pseudomonas aeruginosa* sequence types. *J Clin Microbiol* 2009;47 4096-101.
16. **Baquero F. From pieces to patterns** evolutionary engineering in bacterial pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2004;2 510-8.
17. **Edalucci E, Spinelli R, Dolzani L, et al.** Acquisition of different carbapenem resistance mechanisms by an epidemic clonal lineage of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 88-90.

18. **Garibaldi RA, Burke JP, Dickman ML, Smith CB.** Factors predisposing to bacteriuria during indwelling urethral catheterization. *N Engl J Med* 1974 ; 291 215-219
19. **Rello J, Sa-Borges M, Correa H, Leal SR, Baraibar J.** Variations in etiology of ventilator-associated pneumonia across four treatment sites. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 160 608-613.
20. **Leclercq B.** Mesures d'isolement géographique et technique chez les malades porteurs de bactéries multirésistantes aux antibiotiques en réanimation. *Réan Urg* 1997 ; 6 228-236
21. **Hygis N,** Hygiène hospitalière 1998; page 121
22. **Konig, C., H. P. Simmen and J. Blaser.** 1998. Bacterial concentrations in pus and infected peritoneal fluid-implications for bactericidal activity of antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 42 [227-32]
23. **Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW,** Risk factors for antimicrobial resistance and influence of resistance on mortality in patients with bloodstream infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist* 2005;11 (1)68-74
24. **Bert F, Lambert-Zechovsky N,** Résistance aux antibiotiques et problèmes thérapeutiques posés par *Pseudomonas aeruginosa*. *Presse Med* 1999;28 (8)451-458
25. **Wang CY, Jerng JS, Cheng KY, Lee LN, Yu CJ, Hsueh PR, Yang PC,** Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalised patients clinical features, risk-factors and outcomes. *Clin Microbiol Infect* 2006;12 (1)63-8
26. **Paterson DL,** The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006;43 Suppl 2 S43-8
27. **Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y,** Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50 (1)43-8

28. **Cavallo JD, Leblanc F, Fabre R, Fourticq-Esqueoute A**, [Survey of the antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* in France and the distribution of beta-lactam resistance mechanisms the GERPB 1999 study]. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49 (7)534-9
29. **Tacconelli E, Tumbarello M, Bertagnolio S, Citton R, Spanu T, Fadda G, Cauda R**, Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections analysis of trends in prevalence and epidemiology. *Emerg Infect Dis* 2002;8 (2)220-1
30. **M Ait el kadi, M Aghrouch, M Seffar, J El harti, A Bouklouze, Y Cherrah, K Souly, M Zouhdi**. Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production de métallob-lactamases; *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 36, Issue 7, Pages 386-389
31. **K. Lee, W.G. Lee, Y. Uh, G.Y. Ha, J. Cho and Y. Chong**, Korean nation wide surveillance of antimicrobial resistance group. VIM- and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals, *Emerg. Infect. Dis.* **9** (2003), pp. 868–871.
32. **A.Minchella, L. Molinari, S. Alonso, N. Bouziges, A. Sotto and J.-P. Lavigne**. *Biologie*, Volume 58, Issue 1, February 2010, Pages 1-6
33. **European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)**, www.eurosurveillance.org
34. **F. Kwiatkowski, C. Abrial, F. Gachon, R. Chevrier, H. Curé**. *Pathologie biologie* Volume 53, Issue 6, July 2005, Pages 341-348
35. **Van Delden C, Iglewski B.H.** Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Diseases* 1998; 4 551-60.
36. **P Berthelot, F Grattard, F Mallaval, A Ros, F Lucht, B Pozzetto**. Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Pathologie Biologie*, Volume 53, Issue 6, Pages 341-348.
37. **Szabo, C. 2003**. Role of flagellin in the pathogenesis of shock and acute respiratory distress syndrome therapeutic opportunities. *Crit Care Med.* 31 S39-S45.

38. **Pallen, J.M.;Penn, C.W.;Chaudhuri, R.R.(2005).** *Bacterial flagellar diversity in the post-genomic era*, Trends in Microbiology, Vol.13,n4,143-149
39. **Comolli, J. C., L. L. Waite, K. E. Mostov, and J. N. Engel. 1999.** Pili binding to asialo-GM1 on epithelial cells can mediate cytotoxicity or bacterial internalization by *Pseudomonas aeruginosa*. Infect. Immun. 67 3207-3214
40. **Rocchetta, H.L., Burrows, L.L. & Lam, J.S. (1999)** Genetics of O-antigen biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Mol Biol Rev 63(3), 523-53.
41. **Miller, Robert K. Ernst & Martin W LPS, TLR4 and infectious disease diversity** Samuel. Bader Nature Reviews Microbiology 3, 36-46 (January 2005)
42. **Govan, J.R. & Deretic, V. (1996)** Microbial pathogenesis in cystic fibrosis mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. Microbiol Rev 60(3), 539-74.
43. **Nestorovich, E. M., E. Sugawara, H. Nikaido, and S. M. Bezrukov. 2006.** *Pseudomonas aeruginosa* porin OprF properties of the channel. J. Biol. Chem. 281 16230-16237
44. **Azghani, A. O., S. Idell, M. Bains, and R. E. Hancock. 2002.** *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane protein F is an adhesin in bacterial binding to lung epithelial cells in culture. Microb. Pathog. 33 109-114
45. **Berthelot, P., Attree, I., Plesiat, P., Chabert, J., de Bentzmann, S., Pozzetto, B. & Grattard, F. (2003)** Genotypic and phenotypic analysis of type III secretion system in a cohort of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia isolates evidence for a possible association between O serotypes and exo genes. J Infect Dis 188(4), 512-8.
46. **Krall, R., Sun, J., Pederson, K.J. & Barbieri, J.T. (2002)** In vivo rho GTPase-activating protein activity of *Pseudomonas aeruginosa* cytotoxin ExoS. Infect Immun 70(1), 360-7.
47. **Vallis, A.J., Finck-Barbancon, V., Yahr, T.L. & Frank, D.W. (1999)** Biological effects of *Pseudomonas aeruginosa* type III-secreted proteins on CHO cells. Infect Immun 67(4), 2040-4.

48. **Sato, H., Frank, D.W., Hillard, C.J., Feix, J.B., Pankhaniya, R.R., Moriyama, K., Finck-Barbancon, V., Buchaklian, A., Lei, M., Long, R.M., Wiener-Kronish, J. & Sawa, T. (2003)** The mechanism of action of the *Pseudomonas aeruginosa*-encoded type III cytotoxin, ExoU. *Embo J* 22(12), 2959-69.
49. **Yahr, T.L., Vallis, A.J., Hancock, M.K., Barbieri, J.T. & Frank, D.W. (1998)** ExoY, an adenylate cyclase secreted by the *Pseudomonas aeruginosa* type III system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(23), 13899-904.
50. **Hong, Y.Q. & Ghebrehiwet, B. (1992)** Effect of *Pseudomonas aeruginosa* elastase and alkaline protease on serum complement and isolated components C1q and C3. *Clin Immunol Immunopathol* 62(2), 133-8.
51. **Galloway, D.R. (1991)** *Pseudomonas aeruginosa* elastase and elastolysis revisited recent developments. *Mol Microbiol* 5(10), 2315-21.
52. **Engel, L.S., Hill, J.M., Caballero, A.R., Green, L.C. & O'Callaghan, R.J. (1998)** Protease IV, a unique extracellular protease and virulence factor from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem* 273(27), 16792-7.
53. **Avidano, M.A., Cotter, C.S., Stringer, S.P. & Schultz, G.S. (1998)** Analysis of protease activity in human otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 119(4), 346-51.
54. **Wilhelm, S., Tommassen, J. & Jaeger, K.E. (1999)** A novel lipolytic enzyme located in the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 181(22), 6977-86.
55. **Berto, P., Commenil, P., Belingheri, L. & Dehorter, B. (1999)** Occurrence of a lipase in spores of *Alternaria brassicicola* with a crucial role in the infection of cauliflower leaves. *FEMS Microbiol Lett* 180(2), 183-9.
56. **Rosenau, F. & Jaeger, K. (2000)** Bacterial lipases from *Pseudomonas* regulation of gene expression and mechanisms of secretion. *Biochimie* 82(11), 1023-32.

57. **Zuckert, W.R., Marquis, H. & Goldfine, H.** (1998) Modulation of enzymatic activity and biological function of *Listeria monocytogenes* broad-range phospholipase C by amino acid substitutions and by replacement with the *Bacillus cereus* ortholog. *Infect Immun* 66(10), 4823-31.
58. **Stonehouse, M.J., Cota-Gomez, A., Parker, S.K., Martin, W.E., Hankin, J.A., Murphy, R.C., Chen, W., Lim, K.B., Hackett, M., Vasil, A.I. & Vasil, M.L.** (2002) A novel class of microbial phosphocholine-specific phospholipases C. *Mol Microbiol* 46(3), 661-76.
59. **Hogan, D.A. & Kolter, R.** (2002) *Pseudomonas-Candida* interactions an ecological role for virulence factors. *Science* 296(5576), 2229-32.
60. **Luberto, C., Stonehouse, M.J., Collins, E.A., Marchesini, N., El-Bawab, S., Vasil, A.I., Vasil, M.L. & Hannun, Y.A.** (2003) Purification, characterization, and identification of a sphingomyelin synthase from *Pseudomonas aeruginosa*. PlcH is a multifunctional enzyme. *J Biol Chem* 278(35), 32733-43.
61. **Barker, A.P., Vasil, A.I., Filloux, A., Ball, G., Wilderman, P.J. & Vasil, M.L.** (2004) A novel extracellular phospholipase C of *Pseudomonas aeruginosa* is required for phospholipid chemotaxis. *Mol Microbiol* 53(4), 1089-98.
62. **Braun, P., C. Ockhuijsen, E. Eppens, M. Koster, W. Bitter, and J. Tommassen.** 2001. Maturation of *Pseudomonas aeruginosa* elastase. Formation of the disulfide bonds. *J. Biol. Chem.* 276 26030-26035.
63. **Lau, G. W., Ran, H., Kong, F., Hassett, D.J., Mavrodi, D.; 2004a,** *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infect Immun.* 72 4275-4278
64. **Allen, L., Dockrell, D.H., Pattery, T., Lee, D.G., Cornelis, P., Hellewell, P.G. And Whyte, M.K. 2005;** Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* induces neutrophil apoptosis and impairs neutrophil-mediated host defenses in vivo. *J Immunol.* 174 3643-3649

65. **Denning, G.M., Wollenweber, L.A., Railsback, M.A., Cox, C.D., Stoll, L.L. Britigan, B.E.; 1998; Pseudomonas pyocyanin increases interleukin-8 expression by human airway epithelial cells. Infect Immun. 66(12) 5777-5784**
66. **Lau, G.W., Hassett, D.J., Ran, H., Kong, F.; 2004b; The role of pyocyanin in Pseudomonas aeruginosa infection. Trends Mol Med. 10 599-606**
67. **Carpentier JP, Morillon M, Petrognani R et Cavallo JD. Infections à bacille pyocyanique. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8-025-B-50, 2003, 23 p.**
68. **Takase, H., Nitandai, H., Hoshino, K., Otani, T.; 2000; Impact of siderophore production on Pseudomonas aeruginosa infections in immunosuppressed mice. Infect Immun. 68 1834–1839**
69. **Parot, S., (2007) Biofilms électroactifs formation, caractérisation et mécanismes. These, Institut National Polytechnique, Toulouse.**
70. **Lamont, I.L., Beare, PSEUDOMONAS AERUGINOSA. 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 7072**
71. **Latifi A, Foglino M, Tanaka K, Williams P, Lazdunski A. A hierarchical quorum-sensing cascade in Pseudomonas aeruginosa links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS. Mol Microbiol 1996; 21 1137-46.**
72. **Smiley, A., and Hassett, D. Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections in Cystic Fibrosis. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy. 2006. p. 155-158**
73. **Teresa G. Fischer** <http://faculty.irsc.edu/FACULTY/TFischer/micro%20resources.htm>
74. **Cheeptam, Fardy,** http://archive.microbelibrary.org/microbelibrary/files/ccImages/Articleimages/Atlas_EMB/Pseudomonas-aeruginosa_EMB_fig4.jpg

75. **A.H. Siddiqui, M.E. Mulligan and E. Mahenthiralingam *et al.***, An episodic outbreak of genetically related *Burkholderia cepacia* among non-cystic fibrosis patients at a university hospital, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 22 (2001) (7), pp. 419–422
76. **P.T. Tassios, V. Gennimata and L. Spaliara-Kalogeropoulou *et al.***, Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* serogroup O 11 outbreak in an intensive care unit, *Clin. Microbiol. Infect.* 3 (1997) (6), pp. 621–628
77. **C.K. Stover, X.Q. Pham and A.L. Erwin *et al.***, Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen, *Nature* 406 (2000) (6799), pp. 959–964
78. **C.K. Raymond, E.H. Sims and A. Kas *et al.***, Genetic variation at the O-antigen biosynthetic locus in *Pseudomonas aeruginosa*, *J. Bacteriol.* 184 (2002) (13), pp. 3614–3622
79. **F.C. Tenover, R.D. Arbeit and R.V. Goering**, How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 18 (1997) (6), pp. 426–439
80. **M.J. Struelens, V. Schwam, A. Deplano and D. Baran**, Genome macrorestriction analysis of diversity and variability of *Pseudomonas aeruginosa* strains infecting cystic fibrosis patients, *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993) (9), pp. 2320–2326
81. **M. Okazaki, T. Watanabe and K. Morita *et al.***, Molecular epidemiological investigation using a randomly amplified polymorphic DNA assay of *Burkholderia cepacia* isolates from nosocomial outbreaks, *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999) (12), pp. 3809–3814.
82. **S. Brisse, D. Milatovic and A.C. Fluit *et al.***, Molecular surveillance of European quinolone-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter sp.* using automated ribotyping, *J. Clin. Microbiol.* 38 (2000) (10), pp. 3636–3645

83. **F.C. Tenover, R.D. Arbeit and R.V. Goering**, How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 18 (1997) (6), pp. 426–439
84. **FOURNIER C, ANDRE J, MARLIER H, GUINET R, GILLY R.** Sérodiagnostic des infections à *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose étude comparative du Western Blot, de l'ELISA exotoxine A et de l'ELISA phospholipase C .1993, vol. 41, no9, pp. 856-864
85. **Cavalloa J,Mérensa A.** *Pseudomonas aeruginosa* and beta-lactam antibiotics at the time of Europe;Volume 56, Issues 7-8, November-December 2008, Pages 435-438
86. **D. Talon and X. Bertrand**, Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. In Hauser and Rello, Editors, *Severe infections caused by Pseudomonas aeruginosa*, Kluwyver publisher (2004), pp. 115–125
87. **Bedos J.P.** Stratégies thérapeutiques dans les infections à *Pseudomonas*.Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation Volume 22, Issue 6, June 2003, Pages 534-538
88. **Mokhtari M, Trouillet JL, Combes A, Baudot J, Chastre J, Gibert C.**Traitement par aérosols de colimycine des pneumonies acquises sous
89. **Goldstein I, Wallet F, Nicolas-Robin A, Ferrari F, Marquette CH, Rouby JJ.** Lung deposition and efeciency of nebulized amikacin during *Escherichia coli* pneumonia in ventilated piglets. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166 1375–81
90. **Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MC, Marinho IS, Arruda EA, et al.** Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999;28 1008–11

91. **Dennesen PJW, van der Ven AJAM, Kessels AGH, Ramsay G, Bonten MJM.** Resolution of infectious parameters after antimicrobial therapy in patients with ventilator-associated pneumonia. *AmJ Respir Crit Care Med* 2001;163 1371–5
92. **Agence de la santé publique du Canada** www.santepublique.gc.ca
93. **Congrès de la Société de réanimation de langue française.** ventilation mécanique dues à des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* multirésistants. SRLF. janvier 2002. p. 16–8.
94. **Guisseth O, Boulestreaux H, Roguesa AM, Fiorea M, Szajnera S, Bezianc MC, Gabinskib C, Gachiea JP.** Reservoirs and transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit *Médecine et Maladies Infectieuses* Volume 36, Issue 2, February 2006, Pages 99-104
95. **Jean Minjoz,** Faculté de Médecine-Pharmacie de Besançon [http //bacterioweb.univ-fcomte.fr/photo2detail.php?id=48](http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/photo2detail.php?id=48)
96. **D.J. Weber, W.A. Rutala, C.N. Blanchet, M. Jordan and M.F. Gergen, Faucet aerators** a source of patient colonization with *Stenotrophomonas maltophilia*, *Am. J. Infect. Control* 27 (1999), pp. 59–63
97. **Delahaye D.** cours de bactériologie [http //www.arnobio2.com](http://www.arnobio2.com)
98. **Clarck TJ.** *Pseudomonas aeruginosa*, Bactériale disease [http //www.drlera.com/bacterial_diseases/pseudomonas_aeruginosa.htm](http://www.drlera.com/bacterial_diseases/pseudomonas_aeruginosa.htm)
99. **Carpentier JP, Morillon M, Petrognani R et Cavallo JD.** **Infections à bacille pyocyanique.** *Encycl méd Chir* (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8-025-B-50, 2003,23p.
100. **South Australian Health Commission Code,** Standard for the Operation of Swimming Pools and Spa Pools in South Australia, Department of Human Services, South Australia Health Commission, 1991
101. **NYU Department of Medicine educational website** [http //www.clinicalcorrelations.org/?p=2471](http://www.clinicalcorrelations.org/?p=2471)

102. **Sottile FD, Marrie TJ, Prough DS, et al.** Nosocomial pulmonary infection possible etiologic significance of bacterial adhesion to endotracheal tubes. *Crit Care Med* 1986;14(4) 265–70
103. **Hafiane A, Ravaoarino M.** Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients *Médecine et Maladies Infectieuses* Volume 38, Issue 5, May 2008, Pages 238-247
104. **Berthelot P., Grattard F., Mahull P et al** Prospective Study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive care Med* 2001 27 (3) 503-12
105. **J. Rello, P. Jubert, J. Valles, A. Artigas, M. Rue and M.S. Niederman,** Evaluation of outcome for intubation patients with pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Clin Infect Dis* 23 (1996), pp
106. **D.C. Bergmans, M.J. Bonten, E.E. Stobberingh, F.H. van Tiel, S. van der Geest and P.W. de Leeuw,** Colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in patients developing ventilator-associated pneumonia, *Infect Control Hosp Epidemiol* 19 (1998), pp. 853–855.
107. **Botzenhardt, K., and Doring, G.** Ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa as an Opportunistic Pathogen.* 1993. p. 1-7.
108. **Jarlier V, Fosse T, Philippon A.** Antibiotic susceptibility in aerobic gram-negative bacilli isolated in intensive care units in 39 French teaching hospitals (ICU study). *Intensive Care Med* 1996;22(10) 1057–65
109. **Rossolini GM, Mantengoli E,** Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11 Suppl 4 17-32
110. **Hatchette TF, Gupta R, Marrie TJ,** *Pseudomonas aeruginosa* community-acquired pneumonia in previously healthy adults case report and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2000;31 (6)1349-56

- 111. Engelhart S, Krizek L, Glasmacher A, Fischnaller E, Marklein G, Exner M.** Pseudomonas aeruginosa outbreak in a haematology–oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. J Clin Microbiol 2002;52 93–8
- 112. Richet H, Escande MC, Marie JP, Zittoun R, Lagrange PH.** Epidemic Pseudomonas aeruginosa serotype O16 bacteremia in hematology–oncology patients. J Clin Microbiol 1989;27 1992–6
- 113. Hamouche E, Sarkis DK.** Evolution de la sensibilité aux antibiotiques de Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii dans un CHU de Beyrouth entre 2005 et 2009. Pathol Biol (Paris) (2011), doi 10.1016/j.patbio.2011.03.011
- 114. Doring and Pier, 2008**

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- Les médecins seront mes frères.*
- Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
 - < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
 - < وأن أمارس مهنتي بوانح من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي الأول .
 - < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
 - < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
 - < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
 - < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
 - < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
 - < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
 - < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في .
- والله على ما أقول شهيد .

عدوى الزائفة الزنجارية: مستجدات

أطروحة

أدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

السيد: عبد الحكيم الباجوري

الروداد في: 10 يونيو 1986 بسني قسم

طبيبة داخلي بالمرکز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية - الرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: الزائفة الزنجارية - عدوى المستشفيات - البكتيريا المقاومة للعقاقير.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عمر أكادي

أستاذ في طب الأطفال

مشرف

السيدة: سكتينة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

أعضاء

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في علم الكيمياء الإحيائية