

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP – DAKAR
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNEE 1993

N° 79



ETUDE DES MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES DES SOUCHES DE PSEUDOMONAS ISOLEES A DAKAR

THESE

pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement le 26 juillet 1993

par

Maimouna BA

née le 8 novembre 1966 à DAKAR (Sénégal)

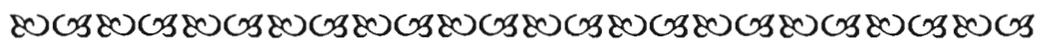


MEMBRES DU JURY :

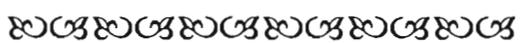
Président	: M. Ibrahima WONE,	Professeur
Membres	: M. Abibou SAMB,	Professeur
	M. Souleymane MBOUP,	Professeur
	M. Mamadou BADIANE,	Maître de Conférences agrégé
Directeurs de Thèse	: M. Souleymane MBOUP,	Professeur
	M. Cheikh Saad-Bouh BOYE,	Maître Assistant

M 39819

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE



PERSONNEL DE LA FACULTE



DOYEN.....	M. René	NDOYE
PREMIER ASSESSEUR.....	M. Doudou	BA
DEUXIEME ASSESSEUR.....	M. Ibrahima Pierre	NDIAYE
CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS	M. Assane	CISSE

Liste du Personnel Etablie au 19 Avril 1993

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE



POUR L'ANNEE UNIVERSITAIRE

1992/1993



PROFESSEURS TITULAIRES

M. Salif	BADIANE	Maladies Infectieuses
M. Omar	BAO	Thérapeutique
M. Hervé	DE LAUTURE	Méd Préventive
M. Fadel	DIADHIOU	Gynécologie-Obstétrique
M. Lamine	DIAKHATE	Hématologie
M. Samba	DIALLO	Parasitologie
M. Adrien	DIOP	Chirurgie Générale
+ M. El Hadj Malick	DIOP	O.R.L.
Mme Thérèse	MOREIRA DIOP	Médecine Interne (Clinique Médicale 1)
M. Sémou	DIOUF	Cardiologie
M. Mohamadou	FALL	Pédiatrie
+ M. Pierre	FALTOT	Physiologie
M. Mamadou	GUEYE	Neuro-Chirurgie
M. Pape Abdourahmane	KANE	Pneumophthysiologie
M. Nicolas	KUAKUVI	Pédiatrie
M. Aristide	MENSAH	Urologie
M. Bassirou	NDIAYE	Dermatologie
M. Ibrahima Pierre	NDIAYE	Neurologie
M. Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
M. Pape Demba	NDIAYE	Anatomie Pathologique
M. René	NDOYE	Biophysique
M. Idrissa	POUYE	Orthopédie-Traumatologie
M. Abibou	SAMB	Bactériologie-Virologie
* M. Abdou	SANOKHO	Pédiatrie
Mme Awa Marie	COLL/SECK	Maladies Infectieuses
+ M. Dédéou	SIMAGA	Chirurgie Générale
* M. Abdourahmane	SOW	Maladies Infectieuses
M. Ahmédou Moustapha	SOW	Médecine Interne (Clinique Médicale II)

+ Professeur Associé

* Personnel en détachement

M. Moussa Lamine	SOW	Anatomie
M. Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie Générale
M. Papa	TOURE	Cancérologie
M. Alassane	WADE	Ophthalmologie
M. Ibrahima	WONE	Médecine Préventive

PROFESSEURS SANS CHAIRE



M. Ibrahima	SECK	Biochimie Médicale
-------------	------	--------------------

PROFESSEURS EN SERVICE EXTRAORDINAIRE



M. Pierre	LAMOUCHE	Radiologie
-----------	----------	------------

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES



M. José-Marie	AFOUTOU	Histologie-Embryologie
M. Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie-Obstétrique
* M. Mamadou Diakhité	BALL	Dermatologie
M. Fallou	CISSE	Physiologie
M. Baye Assane	DIAGNE	Urologie
M. Babacar	DIOP	Psychiatrie
M. El Hadj Ibrahima	DIOP	Orthopédie-Traumatologie
M. Saïd Norou	DIOP	Médecine Interne (Clinique Médicale II)
M. Souvasin	DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
Mme Sylvie	SECK/GASSAMA	Biophysique
M. Momar	GUEYE	Psychiatrie
M. Abdoul Almamy	HANE	Pneumophtisiologie

X M.	Alain	LE COMTE	Biophysique
	M. Salvy Léandre	MARTIN	Pédiatrie
X. M.	Jehan Mary	MAUPPIN	Anatomie
	M. Victorino	MENDES	Anatomie Pathologique
+	M. Madoune Robert	NDIAYE	Ophthalmologie
	Mme Mbayang	NDIAYE/NIANG	Physiologie
	M. Mohamed Fadel	NDIAYE	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
+	M. Mamadou	NDOYE	Chirurgie Infantile
	Mme Bineta	SALL/KA	Anesthésie-Réanimation
	M. Mamadou	SARR	Pédiatrie
	M. Seydina Issa	LAYE/SEYE	Orthopédie-Traumatologie
	M. Mamadou Lamine	SOW	Médecine Légale
	M. Houseyn Dembel	SOW	Pédiatrie
	M. Omar	SYLLA	Psychiatrie

CHARGES D'ENSEIGNEMENT



	M. Mamadou	BA	Pédiatrie
	M. Jean Pierre	BENAIS	Médecine Légale
§	M. ALy	NGOM	Gynécologie-Obstétrique

MAITRES-ASSISTANTS



	M. Serigne Abdou	BA	Cardiologie
	M. Moussa	BADIANE	Radiologie
	M. Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
	M. Abdaralmane	DIA	Anatomie
	M. Bernard Marcel	DIOP	Maladies Infectieuses
	M. Babacar	FALL	Chirurgie Générale
	M. Ibrahima	FALL	Chirurgie Générale
	M. Oumar	GAYE	Parasitologie
+	M. Claude	MOREIRA	Pédiatrie
	M. Jean-Charles	MOREAU	Gynécologie-Obstétrique
	M. Adama Bandiougou	NDIAYE	Immunologie (Hématologie)
	M. Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie Générale
	M. Mohamadou Guélaye	SALL	Pédiatrie

	M. Niama Diop	SALL	Biochimie Médicale
*	M. Moustapha	SARR	Cardiologie
	M. Gora	SECK	Physiologie
	Mme Haby	SIGNATE/SY	Pédiatrie
	M. Doudou	THIAM	Hématologie

-
- + Maître de Conférences Agrégé Associé
 - X Maître de Conférences Associé
 - + Maître-Assistant Associé
 - § Personnel mis en disponibilité

.../...

ATTACHES - CHEFS DE CLINIQUES

Mme Mame Coumba	GAYE/FALL	Médecine Légale
M. Kalidou	KONTE	Urologie
M. Didier	LEBOULLEUX	Maladies Infectieuses
M. Ismail	TIDJANI	Urologie

ASSISTANTS



	Melle Issa Bella	BAH	Parasitologie
+	M. Aynina	CISSE	Physique Pharmaceutique
	Mme Aïssatou	GAYE/DIALLO	Bactériologie-Virologie
	Mme Aminata	SALL/DIALLO	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacologie et Pharmacodynamie)
	M. Mamadou Sadioliou	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
	M. Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
	Melle Thérèse	DIENG	Parasitologie
	M. Alioune	DIEYE	Biochimie Pharmaceutique
	M. Ahmedou Bamba Koueimel	FALL	Pharmacie Galénique
	Mme Aminata	GUEYE/SANOKHO	Pharmacologie et Pharmacodynamie
	Mme Monique	HASSELMANN	Toxicologie
	M. Modou	LO	Botanique
	M. Philomène	LOPEZ	Biochimie Pharmaceutique
	M. Tharcisse	NKULIKIYE MFURA	Chimie Analytique
	Mme Maguette Dème	SYLLA/NIANG	Biochimie Pharmaceutique
	Mme Aïssatou	GUEYE SANKARE	Pharmacognosie
+	M. Elimane Amadou	SY	Chimie Générale et Minérale
*	M. Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique
	M. Mohamed Archou	VICTORIUS	Zoologie

ATTACHES



	M. Idrissa	BARRY	Pharmacognosie
	Mlle Ourèye	DABO	Pharmacognosie
	M. Mohamed	DIAWARA	Physique Pharmaceutique
	M. Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
	M. Djibril	FALL	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
	M. Aly Coto	NDIAYE	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacologie et Pharmacodynamie)
	Mme Maïmouna	NIANGNDIAYE	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacologie et Pharmacodynamie)
	M. Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique

PROFESSEUR TITULAIRE



	M. Ibrahima	BA	Pédodontie-Prévention
*	Mme Ndioro	NDIAYE	Odontologie Préventive et Sociale

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES



§	M. Gilbert	LARROQUE	Odonto-Stomatologie
---	------------	----------	---------------------

MAITRES - ASSISTANTS



	M. Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
	Melle Fatou	GAYE	Dentisterie Opératoire
	Mme Charlotte	FATY/NDIAYE	Pathologie et Thérapeutique Spéciales
	M. Malick	SEMBENE	Parodontologie
	M. AbdoulAziz	YAM	Pathologie et thérapeutique antérieure

ASSISTANTS DE FACULTE



	Mme Christiane	AGBOTON/JOHNSON	Prothèse Dentaire
	Mme Aïssatou	BA/TAMBA	Pédodontie-Prévention
	Mme Khady	DIOP/BA	Orthopédie-Dento-Faciale
X	Mme Maïmouna	BADIANE	Dentisterie Opératoire
	M. Patrick	BEYLIE	Biologie et Matières Fondamentales
	M. Daouda	CISSE	Odontologie Préventive et Sociale
+ ✓	M. Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
	Mme Adam Marie Awa	SECK DIALLO	Parodontologie

§ Maître de Conférences Associé

+ Assistant Associé

* Personnel en Détachement

X Personnel mis en disponibilité

.../...

+M. Boubacar	DIALLO	Odontologie Chirurgicale
Mme Affissatou	NDOYE/DIOP	Dentisterie Opératoire
Mme Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M. Libasse	DIOP	Prothèse Dentaire
M. Mamadou Moustapha	GUEYE	Odontologie Préventive et Sociale
M. Abdoul Wahabe	KANE	Dentisterie Opératoire
+ M. Malick	MBAYE	Dentisterie Opératoire
Mme Paulette Mathilde	AGBOTON/MIGAN	Matières Fondamentales
M. Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
Mme Maye Ndave	NDOYE/NGOM	Parodontologie
+ M. Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire
Mme Soukèye	DIA/TINE	Odonto-Stomatologie
M. Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire
		Dentaires
M. Younes	YOUNES	Prothèse Dentaire

ATTACHE



M. Cheikh	N'DIAYE	Prothèse Dentaire
-----------	---------	-------------------

PROFESSEURS TITULAIRES



M. Doudou	BA	Chimie Analytique
* M. Marc	DAIRE	Physique Pharmaceutique
M. Issa	LO	Pharmacie Galénique
* M. Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES



M. Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique
M. Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie
M. Mounirou	CISS	Toxicologie
M. Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
+ M. Babacar	FAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
+ M. Omar	NDIR	Parasitologie

CHARGES D'ENSEIGNEMENT



Mme Geneviève	BARON	Biochimie Pharmaceutique
M. Michel	POTDEVIN	Physique Pharmaceutique
M. Bernard	WILLER	Chimie Analytique

MAITRES - ASSISTANTS



M. Cheikh Saad bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
M. Papa Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique
M. Amadou	DIOUF	Toxicologie
Mme Rita Béréhoundougou	NONGONIERMA	Pharmacognosie
Mme Urbane	TANGUY SAVREUX	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
Mme Anne	RICHARD TEMPLE	Pharmacie Galénique

+ Maître de Conférences Agrégé Associé

* Professeur Associé

**ASSISTANTS DE FACULTE-ASSISTANTS
DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX**



	M. Jean -Marie	DANGOU	Anatomie Pathologique
	M. Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
	M. Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
	M. Yémou	DIENG	Parasitologie
	M. Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
	M. Moctar	DIOP	Histologie-Embryologie
	M. Oumar	FAYE	Parasitologie
	Mme Gisèle	WOTO/GAYE	Anatomie Pathologique
X.	M. Ibrahima	MANE	Médecine Préventive
	M. Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie
	M. Ahmad Iyane	SOW	Bactériologie-Virologie
	Mme Hassanatou	TOURE/SOW	Biophysique
	M. Kamadore	TOURE	Médecine Préventive
	M. Meïssa	TOURE	Biochimie Médicale

**CHEFS DE CLINIQUE-ASSISTANTS
DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX**



	M. El Hadj Amadou	BA	Ophtalmologie
	M. Mamadou	BA	Urologie
	Mme Marième	BA/GUEYE	Gynécologie-Obstétrique
	M. Moussa	BA	Psychiatrie
	M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neuro-Chirurgie
	M. Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
	M. El Hadj Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie

X Assistant Associé

* En Stage

.../.....

M. Cheikh Ahmed Tidiane CISSE		Gynécologie-Obstétrique
Mme Mariama Safiétou KA/CISSE		Médecine Interne (Clinique Médicale II)
Mme Elisabeth	FELLER/DANSOKHO	Maladies Infectieuses
+ M. Massar	DIAGNE	Neurologie
M. Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
M. Papa Ndiouga	DIENG	Anesthésie-Réanimation
* M. Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M. Ibrahima Bara	DIOP	Cardiologie
* M. Rudolph	DIOP	Stomatologie
M. Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Boucar	DIOUF	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M. Ibrahima Fodé	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
* M. Mamadou Lamine	DIOUF	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M. Raymond	DIOUF	O.R.L.
M. Saliou	DIOUF	Pédiatrie
*+ M. Serigne Magueye	GUEYE	Urologie
+ M. Mamadou Mourtalla KA		Médecine Interne (Clinique Médecine I)
M. Abel	KABRE	Neuro-Chirurgie
M. Abdoul	KANE	Cardiologie
M. Assane	KANE	Dermatologie
+ M. Abdoul Aziz	KASSE	Cancérologie
M. Georges	KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
Mme Aminata	DIACK/MBAYE	Pédiatrie
M. Ismaïla	MBAYE	Médecine Légale
M. Amadou Koura	NDAO	Neurologie
MmeMame Awa	FAYE/NDAO	Maladies Infectieuses
M. Issa	NDIAYE	O.R.L.
M. Ousmane	N'DIAYE	Pédiatrie
M. Nafissatou Bathily	NDOYE	Ophtalmologie
M. Thierno SouleymaneNIANE		Pneumophtisiologie

+ Chef de Clinique - Assistant Associé

* En Stage

	M. El Hadj	NIANG	Radiologie
	M. Abdoulaye	POUYE	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
+	M. Youssoupha	SAKHO	Neuro-Chirurgie
	Melle Anne Aurore	SANKALE	Chirurgie Générale
	M. Doudou	SARR	Psychiatrie
	M. Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
	M. Birama	SECK	Psychiatrie
	M. El Hassane	SIDIBE	Médecine Interne (Clinique Médicale II)
+	M. Masserigne	SOUMARE	Maladies Infectieuses
	M. Charles Mouhamed	SOW	Orthopédie-Traumatologie
	M. Daouda	SOW	Psychiatrie
+	M. Papa Salif	SOW	Maladies Infectieuses
	M. Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
	M. Cheickna	SYLLA	Urologie
	M. Alé	THIAM	Neurologie

ATTACHES-ASSISTANTS DES SCIENCES FONDAMENTALES



	M. Aliou	KEBE	Physiologie
	M. El Hadj Alioune	LO	Anatomie
	M. Mamadou	MBODJ	Biophysique
	M. Oumar	NDOYE	Biophysique
	M. Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
	MmeKhadissatou	SECK/FALL	Hématologie
	Mme Catherine	JUGIE/THERON	Biophysique (Radio Immunologie)
	M. Issa	WONE	Médecine Préventive

+ Chef de Clinique-Assistant Associé

M. Matar

SECK

Pharmacie Chimique
et Chimie Organique

M. Mamadou

TOURE

Biochimie Pharmaceutique

M. Alassane

WELE

Chimie Physique

* En Stage

+ Assistant Associé

JE

DEDIE

CE TRAVAIL...

XX

A "ALLAH

LE TOUT PUISSANT

ET A SON

PROPHETE

MOUHAMED PSL"

XX

IN MEMORIAM

A MES GRANDS-PARENTS MATERNELS
BOUBACAR LY et SOUADOU LY

Reposez en paix

A MES GRANDS-PARENTS PATERNELS,
OUMAR BA et MADAME DIOUF

Pour le salut de votre âme

A MA CHERE TANTE,
ADJA OULIMATA LY

J'aurai bien aimé que vous soyez là aujourd'hui. Vous avez été une deuxième mère pour ma mère, mais aussi une éducatrice pour chacun d'entre nous.

Charmante femme, votre courage a été immense.

Toutes les routes du réconfort convergeaient vers votre demeure, vous aviez le sens des liens familiaux et vous aviez œuvré pour les unir.

Que la porte du Paradis vous soit grande ouverte

Que vos bons actes vous soient récompensés

Que la terre vous soit légère

Amin

" HONORE TES PARENTS ET ALLAH T'HONORERA "

A MA MERE,

Adorable, gentille et douce maman ; tout ce que je suis, tout ce que je serais c'est à toi que je le dois.

Femme courageuse, pleine d'abnégation et de persévérance, tu nous a toujours donné le meilleur de toi-même.

Sâche ma chère maman que je suis pleine d'amour, d'admiration, de gratitude et de respect pour toi.

Hélas ! que je ne puisse finir le dictionnaire des mots doux, aucune dédicace ne pourrait exprimer l'étendue de ma reconnaissance.

Tes souffrances et tes prières n'ont pas été vaines. En témoignage de mon Amour infini, je t'offre ce travail, il t'appartient, il est le fruit de tes innombrables sacrifices.

Oh ! Allah ! accorde nous longue vie et santé pour que nous puissions ensemble savourer le fruit de ce travail et remplir le coeur de notre mère de joie.

A MON PERE,

Homme courageux, travailleur, persévérant, vous aimez la droiture et vous détestez la médiocrité. Je suis fière d'être la fille d'un tel homme, Vous demeurerez toujours pour nous un modèle à suivre.

Dans votre vie vous avez toujours lutté pour nous assurer une bonne éducation, les meilleures écoles....

Je dirai même mon cher père que vous nous avez transmis le gène codant pour le goût du travail bien fait.

Nous ne trouverons jamais la formule exacte pour vous exprimer notre profonde gratitude pour tous les sacrifices consentis, accepte donc ce modeste travail en témoignage de notre infinie gratitude et notre éternel Amour.

Que l'éternel vous accorde longue vie et santé pour que nous puissions savourer ensemble le fruit de nos efforts réunis.

Papa, Maman, merci ; merci ;

plusieurs millions, de milliards de fois, vous avez fait de nous avec l'aide de Dieu ce que nous sommes devenus.

A MON BEAU-PERE,
M. DANSY CAMARA

Je vous dédie ce travail, car je vous dois beaucoup, vous avez été pour moi un deuxième père.

Je ne pourrais oublier tout ce que vous avez fait pour moi, ma gratitude envers vous est aussi grande qu'un gratte-ciel et j'œuvrerai pour vous l'exprimer à juste titre.

A MA BELLE-MERE,
HELENE SAKILIBA

Quand j'étais toute petite vous m'avez aidé, guidé et enseigné. Vous avez très bien su relayer ma mère en ces moments difficiles

Je vous dis merci mille fois et vous dédie ce travail

A MA BELLE-MERE
FATOU SARR NDIA YE

Merci pour tous les soins et le soutien moral que vous apportez à mon père.

A M^{me} FATOU SIRA DIA et PAPA DIA,
M^{me} DIA

*Je vous admire pour vos innombrables qualités ;
vous êtes pieuse, bonne, courageuse, humble, généreuse, sage,
bonne conseillère et vous avez le sens des relations humaines.*

*Vous êtes pour moi un modèle de femme à suivre, mais aussi pour
toutes les femmes du monde ;
Vous êtes la référence même.*

*A vous deux, je vous dédie ce modeste travail et par la même
occasion, je vous remercie à mon nom et au nom de toute la
famille.*

A MES FRERES ET SOEURS AINES
THIATY, SOUADOU, ALIOUNE, OUMAR

*Pour votre soutien, votre estime, vos conseils, la manière dont
vous vous êtes occupée de moi depuis que j'étais toute petite.
Ce travail est le votre, voyez y toute ma reconnaissance.*

A MES PLUS JEUNES FRERES, ET SOEURS,
SAID, KHODIA, AMADY, ADJA FATOU, FATOU
BINETOU

*Le secret d'une réussite, c'est le courage et la persévérance.
Voyez en ce travail un modèle et suivez le conseil de vos parents et
de vos aînés, le chemin de la réussite sera glissant et vous
arriverez vite à destination.*

A MON BEAU-FRERE,
BABACAR DIOUF ET SON COPAIN DOUDOU
DIOP

Merci pour votre soutien

A MES TANTES,

Qu'Allah unisse nos familles plus fort encore

A MES BADJENES,

Santé et longévité

A TONGE,

Je te respecte

AU GROUPEMENT Z,

Profond respect, santé et longue vie

A MES COUSINS ET COUSINES,

Qu'Allah vous unisse pour une longue vie

A MES NEVEUX ET NIECES,

Bonque vie et réussite

A MES PLUS CHER (ES) AMI (ES),
NDEYE FATOU NDIAYE, FATOU BA, AISSATOU
LEYE, ANTA NDIAYE, KRISLANE, YANKHOBA
FAYE

Pour tout ce que nous avons vécu ensemble

A MES CAMARADES DE PROMOTIONS,

Sans exception

AU PERSONNEL DU LABORATOIRE DE
BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE

A MME NDEYE KHOUDIA TALL ET A TOUT LE
PERSONNEL DE LA PHARMACIE DE SAHM

*Vous avez guidé mes premiers pas vers la profession, je vous en
suis reconnaissante*

AU PERSONNEL DE LA PHARMACIE REPUBLIQUE

Merci pour tout

A TOUT CEUX QUI ONT PARTICIPE A MA
FORMATION

Merci

A MON PLUS FORT...

A NOS MAITRES ET JUGES

PROFESSEUR IBRAHIMA WONE,

Depuis notre arrivé dans cette faculté, vous nous avez toujours impressionné par l'approche paternelle qui marque vos rapports avec les étudiants, par l'intérêt que vous portez pour la jeunesse et par votre grande culture.

Parmi tant d'autres qualités, la piété et la grandeur dont Allah le tout puissant vous a gratifié fait de vous un maître des plus sages et des plus prestigieux de cette école, aimé de tous.

Nous sommes sensibles et flattés à l'honneur que vous nous faites en présidant ce jury

Ce travail vous est dédié

Qu'Allah vous accorde une longue vie, pleine de santé

PROFESSEUR ABIBOU SAMB,

*Votre goût du travail bien fait, vos multiples connaissances, votre rigueur nous ont guidé à vous choisir comme juge de ce travail
Vous trouverez ici l'expression de nos respectueux remerciements.*

PROFESSEUR SOULEYMANE M'BOUP,

Vous êtes une sommité en la matière

Vos qualités de chercheur, votre compétence, doublées de vos innombrables qualités humaines vous ont valu l'admiration de tous.

Malgré vos innombrables occupations vous avez accepté de suivre l'élaboration de ce travail, ainsi qu'à sa mise à jour.

Vous nous avez conseillé, encouragé à plusieurs reprises

Veillez trouver ici l'expression de notre profond dévouement et de notre gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,

PROFESSEUR MAMADOU BADIANE,

Vos compétences dans votre matière, les rapports simples que vous avez établis entre les étudiants et vous font que vous êtes aimé et admiré de tous.

J'ai décidé depuis ma troisième année, lors de la première leçon que vous nous avez dispensé que vous ferez partie de mon jury de thèse tellement j'étais pleine d'admiration pour vous.

Aujourd'hui, je me réjouis que mon souhait puisse se réaliser.

Merci à vous professeur, pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de faire partie de ce jury et d'accepter ce modeste travail comme le fruit de votre exemplaire enseignement.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,
DOCTEUR CHEIK SAAD-BOUH BOYE,

Même un dictionnaire des plus fournis ne me permettra pas de vous qualifier.

Nous ne pouvions trouver meilleur juge que vous, vous nous avez fait confiance en nous proposant ce sujet.

Vous avez suivi cette thèse pas à pas, jusqu'à son aboutissement sans nous manifester aucun signe de lassitude.

A tout moment, nous vous avons sollicité et votre sourire éternel, votre constante disponibilité, votre simplicité nous donnait le courage de continuer.

Ce travail est le vôtre, vous pouvez en être fier.

En nous, votre empreinte sera toujours présente.

Pour votre grand dévouement dans la conduite de cette thèse, veuillez acceptez notre profonde reconnaissance et nos chaleureux remerciements.

REMERCIEMENTS

A PHILIPPE ARRIGHI DE CASANOVA ET
BOUBACAR FALL,
ET A TOUT LE PERSONNEL DE BRISTOL MYERS
SQUIBB,

*Les antibiotiques que vous nous avez offert ont aidé à la
réalisation de ce travail*

A LOUIS HALLER ET TOUTE LA FONDATION
ROCHE AFRIQUE,

Pour votre soutien matériel

A ABDOULAYE DIENG SARR,

*Vous avez contribué à fournir la bibliographie de ce travail
Profonde reconnaissance*

A OUANGRE,

Pour toutes les photos que vous avez faites pour nous. Merci

A N'DEYE COUMBA TOURE,

Pour l'aide matériel que vous nous avez apporté

A LEYFOU DABO ET OUMAR KAIRA,

Merci infiniment

" Par délibération, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation "

LISTE DES ABREVIATIONS

AAC	: Aminoglycoside acetyl transferase
AAD	: Aminoglycoside adenyl transferase
ADN = DNA	: Acide désoxyrubonucleique
ADH	: Arginine dihydrolase
AMC	: Ampicilline + Ac. clavulanique
AMK	: Amikacine
AMP	: Ampicilline
AMX	: Amoxicilline
AM2	: Antibiotic medium 2
APH	: Aminoglycoside phosphoryl transferase
ATB	: Antibiotique
ATM	: Aztréonam
CARB	: Carbénicilline
CAZ	: Ceftazidime
CFP	: Cefopérazone
CFZ	: Céfazoline
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CRO	: Ceftriaxone
CTX	: Cefotaxime
FDA	: Food and drug administration
HALD	: Hôpital Aristide Le Dantec
HEAR	: Hôpital d'enfants Albert Royer
IP	: Intitut Pasteur
IPM	: Imipénem
LCR	: Liquide Céphalorachidien
LDC	: Lysine decarboxylase
LPS	: Lipopolysaccharide
NCCLS	: National Committee of Clinical Laboratory Standard
ODC	: Ornithine decarboxylase
O1...O16	: Antigène O
ONPG	: Orthonitrophényl bêta-galactoside
PBS	: Phosphate buffer saline
PENI	: Pénicilline
PLP	: Phospholipoproteine
SAM	: Ampicilline + Sulbactam
SXT	: Sulfamethoxazole + triméthoprime

PLAN

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

	<i>Page</i>
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>CHAPITRE I : HISTORIQUE</u>	2
<u>CHAPITRE II : TAXONOMIE</u>	3
2.1. Famille des Pseudomonadaceae	3
2.2. Le genre Pseudomonas.....	3
<u>CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A PSEUDOMONAS</u>	6
3.1. Le germe	6
3.1.1. Caractères généraux.....	6
3.1.2. Habitat.....	6
3.2. Sources de contamination	7
3.3. Pouvoir pathogène.....	7
3.3.1. Pouvoir pathogène naturel	7
3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental	8
3.4. Mode de transmission.....	9
3.5. Sujets sensibles	10
3.6. Facteurs de risque	10

CHAPITRE IV : ETUDE BACTERIOLOGIQUE	11
4.1. Caractères morphologiques et ultrastructure	11
4.1.1. Caractères morphologiques généraux.....	11
4.1.2. Ultrastructure.....	11
4.1.3. Structure génomique.....	12
4.2. Caractères culturaux et pigments	12
4.2.1. Milieux et aspects des colonies.....	12
4.2.1.1. Milieu ordinaire.....	12
4.2.1.1.1. Bouillon nutritif.....	12
4.2.1.1.2. Gélose nutritive	12
4.2.1.2. Milieu sélectif.....	12
4.2.1.3. Aspect des colonies	13
4.2.2. Les pigments.....	13
4.3. Caractères biochimiques	14
4.3.1. Propriétés métaboliques	14
4.3.1.1. Métabolisme respiratoire.....	14
4.3.1.2. Métabolisme glucidique.....	14
4.3.1.3. Métabolisme protidique.....	14
4.3.1.4. Métabolisme lipidique.....	14
4.3.2. Les milieux d'identification biochimique	15

	<i>Page</i>
4.4. Toxines et enzymes secrétés	15
4.4.1. Les enzymes.....	15
4.4.2. Les toxines.....	16
4.5. Structure antigénique et réponse immunitaire	16
4.6. Marqueurs épidémiologiques	17
4.6.1. Pyocynotypie.....	17
4.6.2. Sérotypie.....	17
4.6.3. Biotypie.....	17
4.6.4. Antibiotypie.....	17
4.6.5. Lysotypie.....	18

CHAPITRE V : SENSIBILITE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES..... 19

5.1. Notion de résistance	19
5.1.1. Résistance naturelle.....	19
5.1.2. Résistance acquise.....	19
5.2 Mécanismes de résistance	19
5.2.1. Mécanismes biochimiques.....	19
5.2.1.1. Bases génétiques de la résistance.....	19
5.2.1.2. Classification des bêta-lactamases.....	21
5.2.2. Mécanismes moléculaires de la résistance.....	23
5.2.2.1. Résistance aux bêta-lactamines.....	23
5.2.2.2. Résistance aux aminosides.....	23
5.2.2.3. Résistance aux quinolones.....	24
5.2.2.4. Résistance aux sulfamides.....	24

	<i>Page</i>
<u>CHAPITRE VI : Diagnostic des infections à Pseudomonas</u>	25
6.1. Infections urogénitales.....	25
6.2. Infections pulmonaires.....	25
6.3. Infections cutanées.....	26
6.4. Gastroenterites.....	26
6.5. Endocardites	26
6.6. Septicémies	27
6.7. Méningites	27
6.8. Infections ostéo-articulaires.....	27
6.9. Infections oculaires	27
6.10. Infections O.R.L.	28

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL.....

<u>CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES</u>	29
1.1. Origine des souches	29
1.2. Matériel	30
1.2.1. Matériel pour isolement et identification des souches de Pseudomonas	30
1.2.1.1. Milieu d'isolement.....	30
1.2.1.2. Galerie LE MINOR	30
1.2.1.3. API 20 non Entérobacteriaceae	30
1.2.1.4. Disques d'oxydase	30
1.2.2. Matériel pour antibiogramme	30
1.2.3. Matériel pour CMI.....	31
1.2.4. Matériel pour biotypage.....	31
1.2.5. Matériel pour sérotypage	31
1.2.6. Matériel pour la recherche de bêta-lactamases	31

	<i>Page</i>
1.3. Méthodes	32
1.3.1. Bactériologie des prélèvements	32
1.3.2. Méthode de biotypage.....	32
1.3.2.1. Principe	32
1.3.2.2. Mode opératoire.....	32
1.3.2.3. Lecture	32
1.3.3. Méthode de sérotypage	32
1.3.3.1. Principe	32
1.3.3.2. Mode opératoire.....	33
1.3.3.3. Lecture	33
1.3.4. Méthode de réalisation d'un antibiogramme	33
1.3.4.1. Principe	33
1.3.4.2. Mode opératoire.....	33
1.3.4.3. Lecture	33
1.3.5. Méthode de réalisation de la CMI	34
1.3.5.1. Principe	34
1.3.5.2. Mode opératoire.....	34
1.3.5.3. Lecture	34
1.3.5.4. Critères d'interprétation des CMI	35
1.3.6. Méthode de recherche d'une bêta-lactamase : céfinase	35
1.3.6.1. Principe	35
1.3.6.2. Mode opératoire.....	35
1.3.6.3. Lecture - interprétation.....	35

CHAPITRE II : RESULTATS	36
2.1. Répartition des souches selon les espèces	36
2.2. Répartition selon les produits pathologiques.....	36
2.3. Profils antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas</i>	36
2.3.1. Profil global	38
2.3.2. Profils antibiotiques des souches de <i>P. aeruginosa</i>	39
2.3.2.1. Les bêta-lactamines	39
2.3.2.1.1. Les pénicillines.....	39
2.3.2.1.2. Les carbapénems	39
2.3.2.1.3. Les céphalosporines	39
2.3.2.1.4. Les monobactams.....	39
2.3.2.2. Les sulfamides	39
2.3.2.3. Les aminosides	40
2.3.3. Profils antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. stutzeri</i> et <i>P. mendocina</i>	41
2.3.3.1. Les bêta-lactamines	41
2.3.3.1.1. Les pénicillines.....	41
2.3.3.1.2. Les carbapénems	41
2.3.3.1.3. Les céphalosporines	41
2.3.3.1.4. Les monobactams.....	41
2.3.3.2. Les sulfamides	41
2.3.3.3. Les aminosides	41
2.3.4. Etude comparée des pourcentages de résistance de <i>P. aeruginosa</i> et des autres espèces aux antibiotiques testés	43

	<i>Page</i>
2.3.4.1. Les bêta-lactamines.....	43
2.3.4.1.1. Les pénicillines.....	43
2.3.4.1.2. Les carbapénems	43
2.3.4.1.3. Les céphalosporines	43
2.3.4.1.4. Les monobactams.....	43
2.3.4.2. Les sulfamides	43
2.3.4.3. Les aminosides	43
2.4 Résultats des CMI.....	44
2.4.1. Résultats globaux.....	44
2.4.2. Sensibilité des souches de <i>Pseudomonas</i> en fonction des familles d'antibiotiques.....	45
2.4.2.1. Céphalosporines de 3 ^e génération	45
2.4.2.2. Pénicillines - monobactams	47
2.4.2.3. Les aminosides	49
2.4.2.4. Les quinolones.....	50
2.5. Etude comparée des CMI et des antibiogrammes	52
2.5.1. Les bêta-lactamines	52
2.5.1.1. Les pénicillines.....	52
2.5.1.2. Les céphalosporines	52
2.5.2. Les aminosides	52
2.6. Résultats de la recherche des bêta-lactamases	53
2.6.1. Résultats globaux.....	53
2.6.2. Répartition des bêta-lactamases en fonction des espèces	53

	<i>Page</i>
2.7. Résultats de la sérotypie	53
2.7.1. Fréquence des différents sérotypes obtenus	53
2.7.2. Etude comparée de la sensibilité des antibiotiques en fonction de la sérotypie	54
2.7.2.1. Les bêta-lactamines	54
2.7.2.1.1. Les pénicillines.....	54
2.7.2.1.2. Les carbapénems	55
2.7.2.1.3. Les céphalosporines	55
2.7.2.1.4. Les monobactams.....	55
2.7.2.2. Les sulfamides	56
2.7.2.3. Les aminosides	56
2.7.3. Répartition des bêta-lactamases en fonction des sérotypes	57
2.8. Résultats de la biotypie par la recherche de l'ONPG	57
2.8.1. Résultats globaux.....	57
2.8.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques en fonction des deux types de biotypie	57
2.8.2.1. Les bêta-lactamines	57
2.8.2.1.1. Les pénicillines.....	57
2.8.2.1.2. Les carbapénems	58
2.8.2.1.3. Les céphalosporines	58
2.8.2.1.4. Les monobactams.....	58
2.8.2.2. Les sulfamides	58
2.8.2.3. Les aminosides	58
2.8.3. Etude comparée entre céfinase et biotypie.....	61
2.9. Etude comparative entre sérotypie et biotypie	61
2.10 Principaux phénotypes obtenus	62

CHAPITRE III : DISCUSSION	63
3.1. Fréquence des souches	63
3.1.1. Fréquence des espèces en fonction des produits pathologiques	63
3.1.1.1. Dans les urines	63
3.1.1.2. Dans les pus	63
3.1.1.3. Dans le sang	64
3.1.1.4. Dans les prélèvements divers	64
3.1.2. Fréquence des sérotypes en fonction des produits pathologiques	64
3.1.2.1. Dans les urines	64
3.1.2.2. Dans les pus	65
3.1.2.3. Dans le sang	65
3.1.2.4. Dans les prélèvements divers	65
3.1.3. Corrélation entre biotypie et sérotypie.....	67
3.2. Sensibilité aux antibiotiques	67
3.2.1. Sensibilité globale	67
3.2.1.1. Bêta-lactamines	67
3.2.1.2. Les aminosides	71
3.2.2. Etude comparée de la sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> et des autres espèces.....	71
3.2.2.1. Les bêta-lactamines.....	72
3.2.2.2. Les aminosides	72
3.2.2.3. Les quinolones.....	72
3.2.2.4. Les sulfamides	73
3.2.3. Corrélation entre sérotypes et sensibilité aux antibiotiques	73
3.3. Corrélation entre résistance aux antibiotiques et bêta-lactamases	73
3.4 Phénotypie	76
CONCLUSION	77

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le bacille pyocyanique, bactérie pathogène opportuniste acquiert de plus en plus une place très importante dans les infections nosocomiales pouvant aller d'une simple sur-infection des plaies à une septicémie à pronostic grave.

En effet, de nombreux travaux ont souligné l'ampleur de ces infections dans les pays industrialisés.

Il existe plusieurs facteurs favorisant l'apparition de ces maladies à savoir : l'immunodépression causée par des affections, comme le cancer, le SIDA, les leucémies, les brûlures, le diabète, mais aussi la senescence, le traitement abusif par des antibiotiques à large spectre entraînant la sélection des souches multirésistantes.

Certains groupes de personnes sont particulièrement sensibles aux infections à *Pseudomonas* : les prématurés, les vieillards, les traumatisés, les malades hospitalisés d'une manière générale.

Certains services constituent une cible de choix pour le bacille du genre de *Pseudomonas* : unités néonatales, les chirurgies post-opératoires, les services de réanimation, services de petites chirurgies.

A Dakar, l'étude épidémiologique des infections à *Pseudomonas* a commencé depuis 1973 (8) s'est poursuivie en 1976 (45), en 1980 (34), en 1983 (46), en 1986 (10) et en 1989 (16). Ces travaux insistent sur la sérotypie, la biotypie et la résistance aux antibiotiques.

Malgré toutes ces études, les infections à *Pseudomonas* ne cessent de croître.

Le caractère multirésistant du genre *Pseudomonas* et la marge thérapeutique faible des antibiotiques font que nous avons entrepris de poursuivre ces travaux sur la surveillance de la résistance actuelle aux antibiotiques antipyocyaniques, et l'étude des marqueurs épidémiologiques.

La première partie sera consacrée à des généralités sur le germe et la deuxième présentera notre travail personnel.

1ère PARTIE:

GENERALITES

CHAPITRE I : HISTORIQUE

Au 18^è siècle, le botaniste allemand **MULLER** découvre des microorganismes en bâtonnets très mobiles et les appela monas (formes droites) ou vibrio (formes spiralées).

En 1860, **FORDOS** réussit le premier isolement du germe à partir des plaies à pus bleu, il donna le nom de pyocyanine à cette matière, purifia le germe et le présenta sous forme cristallisée.

En 1872, **SCHROETER** dénomme le germe "Bacterium aeruginosum" tandis que **GESSARD** en 1882, isole le bacille et son pigment en culture pure à partir de l'ancienne pourriture d'hôpital et l'appelle " Bacillus pyocyanéum".

CHARRIN (1884 - 89), WASSERBURG (1887) et GUIGNARD - CHARRIN (1887) continuèrent l'étude de la bactérie en décrivant des variétés et des atypies.

LEHMANH et NEWMAN dénomment le germe "Bacterium pyocyanéum" et **MIGULA** en 1894 crée le genre Pseudomonas pour y classer le genre monas, genre qui est très hétérogène avec la particularité de contenir à la fois, des protistes eucaryotes et des bactéries (25).

En 1957, la 7^è édition du Bergey's Manuel (6) parlait de l'ordre des pseudomonadales en s'appuyant sur leur grande mobilité (due à l'implantation polaire des flagelles).

En 1974, dans la 8^è édition du Bergey's Manuel (6), les bâtonnets à gram négatif sont divisés en trois groupes :

- ✧ bacilles aérobies stricts (dont Pseudomonas)
- ✧ bacilles anaérobies
- ✧ bacilles aéroanaérobies facultatifs.

La famille des Pseudomonadaceae est la plus représentée du groupe des bacilles à Gram négatif aérobies stricts et la plus souvent rencontrée dans un laboratoire à orientation médicale.

Le bacille pyocyanique (du grec : puon = pus et du latin cyaneus = bleu foncé) est maintenant désigné sous le nom de Pseudomonas aeruginosa (du latin aeruginosas = couvert de rouille).

CHAPITRE II : TAXONOMIE

2.1. Famille des Pseudomonadaceae

La famille des Pseudomonadaceae est constituée par des bacilles à Gram négatif de mobilité polaire grâce à des flagelles polaires, chimioorganotrophes, aérobies stricts ayant un métabolisme exclusivement oxydatif.

Les bacilles de la Famille des Pseudomonadaceae sont incapables de fixer l'azote atmosphérique (contrairement aux azotobactériaceae), d'oxyder les composés à un atome de carbone (contrairement aux méthylomonadaceae) de vivre en association symbiotique dans les racines de certaines légumineuses (contrairement aux rhizobiaceae) et elles n'exigent pas de concentration de chlorure de sodium supérieure à 12 % (contrairement aux halobactériaceae).

Malgré toutes ces restrictions la famille des Pseudomonadaceae reste vaste et est constituée de cinq genres principaux :

- ❶ Genre *Pseudomonas* (genre type)
- ❷ Genre *Xanthomonas*
- ❸ Genre *Zoogloea* formé d'une seule espèce *Z. ramigera*.
- ❹ Genre *Gluconobacter*.

2.2. Genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* comporte 160 espèces répertoriées en 1957. Mais l'édition de 1974 du *Bergey's Manuel* retenait 29 espèces dont 13 d'intérêt médical. La nouvelle édition du *Bergey's Manuel* retient 30 espèces principales.

L'essai de classification des *Pseudomonas* s'est appuyé pendant longtemps sur quelques caractères traditionnels comme la flagellation, l'oxydase, la respiration anaérobie des nitrates, l'arginine dihydrolase, les enzymes périplasmiques et la thermotolérance.

Avec ces caractères, la classification de certaines espèces restait toutefois encore difficile.

Au cours des deux dernières décennies, la classification a été améliorée et simplifiée grâce à de nombreux travaux taxonomiques parmi lesquels il convient de citer surtout les études physiologiques de **STANIER, PALLERONI et DOUDOROFF** (59, 51) publièrent en 1966, les expériences d'hybridation rARN-ADN et ADN-ADN de **PALLERONI et coll.** (59, 51) en 1973 et de **VOS et DE LEY** (59, 51) en 1983.

D'après ces auteurs la classification se fait comme suit :

Classification selon leur groupe d'hybridation rARN-ADN(a) des espèces ubiquistes (b) de *Pseudomonas*, *Comamonas* et *Xanthomonas*.

I. Groupe ribonucleique fluorescens

Ia. sous groupe aeruginosa

- P. aeruginosa (espèce type)
- P. fluorescens (5 biovars)
- P. chlororaphis
- P. aureofaciens
- P. putida

Ib. sous groupe stutzeri

- P. stutzeri
- P. mendocina

Ic. sous groupe alcaligenes

- P. alcaligenes
- P. pseudoalcaligenes

Id. P. pertucinogéna

II. Groupe ribonucleique cepacia

- P. pseudomallei
- P. mallei
- P. cepacia
- P. caryophylli
- P. pickettii

III. Groupe ribonucleique acidivorans

- P. acidivorans
- P. testosteroni
- Comamonas terrigena

IV. Groupe ribonucleique Xanthomonas

- Xanthomonas (Pseudomonas) maltophilia

V. Espèces de position incertaine

- P. dimunita
- P. vesicularis
- P. paucimobilis

(a) : d'après **PALLERONI et coll.** (46, 27), **KORSTERS et coll.** (46, 27) et **DEVOS et coll.** (46,27)

(b) : Sauf P. mallei qui est parasite pour les animaux et l'homme.

Cette classification a été possible grâce à l'étude de nouveaux caractères.

- les besoins en facteurs de croissance
- l'assimilation d'une série de substrats carbonés
- la voie de clivage des diphénols

Les critères d'orientation parmi les groupes génomiques de *Pseudomonas* sont regroupés au tableau n° 1 et 2.

CARACTERES	GROUPES GENOMIQUES				
	1	2	3	4	5
Croissance sur MM + acétate	+	+	+	-	-
Utilisation ^b de - arginine	d	+c	-	-	-
- betaine	d	+c	-	-	-
Autotrophie ^d	-	-	d	-	-
Culture 41° C	d	+	-	-	-
Accumulation de PHB	-e	+	+	+	-
Arginine dihydrolase	d	d	-	-	-
Pigment fluorescent	d	-	-	-	-

TABLEAU N° 1 : CARACTERES D'IDENTIFICATION DES GROUPES GENOMIQUES DE PSEUDOMONAS (59).

MM = milieu minéral (sans carbone organique)

PHB = poly-bêta-hydroxybutyrate

a) espèces de *Pseudomonas* citées dans la classification

b) utilisation comme source de carbone et d'énergie en milieu MM (additionné éventuellement de facteur de croissance nécessaire)

c) sauf *P. pickettii* et *P. solanacearum*

d) en milieu MM sous atmosphère de H₂ + CO₂ + O₂

e) sauf quelques souches de *P. pseudoalcaligènes*.

Caractères (a)	Groupes Génomiques																	
	Ia			Ib		Ic		Id		IIa			IIb	III		IV		V
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. stutzeri</i>	<i>P. mendocina</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. pseudoalcaligenes</i>	<i>P. pertucinogena</i>	<i>P. pseudomallei</i>	<i>P. mallei</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>P. pickettii</i>	<i>P. acidovorans</i>	<i>P. testosteroni</i>	<i>P. diminuta</i>	<i>P. vesiculans</i>	<i>X. maltophilia</i>	<i>P. paucimobilis</i>
Nombre de flagelles	1	>1	>1	1	1	1	1	1	>1	0	>1	1	>1	>1	1	1	>1	1
Réserves de poly-β-hydroxybutyrate	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Croissance à 4 °C	-	+	d	-	-	-	-	Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à 41 °C	+	-	-	d	+	+	+	+	+	d	d	+	d	d	d	-	-	-
Auxotrophie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	+	d
Utilisation comme seule source de carbone et d'énergie .																		
Acétate	+	+	+	+	+	+	+	Nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Nd
Glucose	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	Nd
Tréhalose	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	Nd
Maltose	-	-	-	+	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	+	+	Nd
Inositol	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	Nd
Mannitol	+	+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	Nd
Arginine	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Nd
Réaction de l'oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Respiration des nitrates	+	d	-	+	+	-	-	-	+	d	-	+	-	-	-	-	-	-
Arginine-dihydrolase	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Civage des diphenols (b)	Or	Or	Or	Or	Or	-	-	-	Or	Or	Or	Or	Me	Me	-	-	-	Nd
Acidification oxydative du :																		
Glucose (c)	+	+	+	+	+	-	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	-	-	(d)	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	-	(+)	-	+	+	+	(+)	+	-	-	-	+	+
Mannose	d	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	(+)	-	-	-	-	+	+
Lactose	-	d	d	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	d	+
Maltose	-	d	d	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(d)	+	+
Mannitol	d	+	d	d	-	-	-	-	+	d	+	-	+	-	-	-	-	-
Hydrolyse de																		
ONPG	d	-	-	-	-	-	-	Nd	-	-	d	-	-	-	-	d	+	+
Esculine	-	-	-	-	-	-	-	Nd	d	d	d	-	-	-	-	+	+	+
Malonate	+	d	d	d	d	-	-	-	Nd	Nd	+	+	-	-	-	-	+	-
Lysine-décarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Phénylalanine-désaminase	-	-	-	d	d	d	d	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse de macromolécules																		
Amylase	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	d
Gélatinase	d	+	-	-	-	-	-	-	+	d	d	d	-	-	d	d	+	-
Lécithinase	d	+	-	-	-	-	-	Nd	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-
Désoxyribonucléase	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	-
Production de pyocyanine	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de pyoverdine	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hémolyse	d	d	-	-	-	d	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-
Sensibilité à la polymyxine	+	d	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	d	d	d	d
Sensibilité à la furantoïne	-	d	-	d	-	Nd	d	Nd	Nd	Nd	-	d	+	-	d	-	-	+

(a) +, - : caractère présent ou absent chez plus de 80 p. 100 des souches; d : résultat positif chez 20 à 80 p. 100 des souches.
Nd non déterminé. Lecture des réactions après 48 h d'incubation à 30 °C (sauf indication contraire).
(b) Civage des diphenols (Stanier et coll. 1966) : Or : clivage en « ortho »; Me : clivage en « méta »; - : absence de clivage.
(c) + : acidification rapide en 24 h; (+) : acidification discrète, apparaissant souvent après 48 h ou 72 h d'incubation.
d, (d) idem pour une partie seulement des souches. Culture en milieu de Hugh et Leifson ou en MEVAG

TABLEAU N°2: CARACTERES D'IDENTIFICATION DES PRINCIPALES ESPECES DE Pseudomonas (59).

CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A PSEUDOMONAS

Les infections graves à bacilles pyocyaniques sont connues depuis la fin du XIX^e siècle, mais elles sont restées rares jusque vers 1950, date de l'introduction des antibiotiques en pratique courante.

L'usage intensif de ces produits, surtout en milieu hospitalier a conduit à la sélection fréquente des souches de *P. aeruginosa* résistantes à ces antibiotiques.

Par conséquent, cette résistance accrue crée une allure épidémique ; c'est pourquoi de très nombreux travaux ont été consacrés à l'épidémiologie des infections à bacille pyocyanique.

3.1. Le germe

3.1.1. Les caractères généraux

Le genre *Pseudomonas* est un bacille à gram négatif mobile grâce à des ciliatures polaires (sauf *Pseudomonas mallei*) presque toujours oxydase positive (sauf *P. maltophilia*).

Son métabolisme est strictement respiratoire (oxygène et parfois nitrate).

Il est chimioorganotrophe très répandu dans la nature, ubiquiste (sauf *P. mallei*) et souvent fortement résistant aux antiseptiques et antibiotiques usuels.

3.1.2. Habitat

Les souches de *Pseudomonas* sont saprophytes des eaux, des sols humides, des végétaux, de l'environnement humain.

C'est ainsi qu'on distingue :

- les souches marines : dans les eaux de mer, elles sont halophiles strictes ou facultatives ;
- les végétaux concernés sont : plantes, fruits, fleurs, légumes et surtout salades ;
- dans l'environnement, ils sont surtout fréquents en milieu hospitalier dans les bouches de robinet, les draps, les solutions antiseptiques. Ils peuvent aussi vivre chez les animaux d'élevage : porc, bovin, lapin, cheval (20 à 28 % de portage de souches de *Pseudomonas* animales).
- chez l'homme il peut exister à l'état saprophyte dans son tube digestif.

3.2. Sources de contamination

Le réservoir naturel de *Pseudomonas*, bactérie saprophyte est l'eau douce ou l'eau de mer, les végétaux au contact de cette eau et les sols humides.

Règlementairement, l'eau potable ne doit pas contenir de souche de *Pseudomonas*. En fait, en France, elle en contient rarement dans les installations surveillées : moins de 1 % d'échantillons contaminés (93). Mais dans certaines installations mal surveillées, si on utilise un milieu d'enrichissement (milieu vert brillant selenite), la culture de cette eau montre une prévalence de *Pseudomonas aeruginosa*, 3 à 22 % dans l'eau de boisson, 37 % dans les eaux industrielles, 96 % dans les eaux d'égouts.

Dans les habitations les réservoirs peuvent être des sources potentielles de bacilles pyocyaniques.

Des instruments contaminés peuvent être en cause : solutions pour lentilles de contact, cosmétiques.

En milieu hospitalier, sont sources de contamination, nébuliseurs et respirateurs artificiels, cathéters veineux, sondes urinaires, perfuseurs et aiguilles mal stérilisées, solutions d'antiseptiques, matériels opératoires (ciseaux, bistouris...). Il a été démontré que le bacille pyocyanique peut survivre et se multiplier dans l'eau distillée sans donner de trouble visible à des concentrations bactériennes de 10 bactéries/ml.

3.3. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa présente la particularité d'être peu virulent chez l'individu normal et au contraire, très pathogène chez les sujets dont les défenses sont altérées.

3.3.1. Pouvoir pathogène naturel

Le bacille pyocyanique est un germe pathogène opportuniste donc ne détermine de maladie que dans certaines conditions qui lui sont favorables :

- après une inoculation agressive,
- chez les sujets à défenses altérées : traumatisés (plaies et brûlures), immunodéprimés.

Les pathologies engendrées sont très variées aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Chez l'homme, on distingue schématiquement deux types de pathologie :

- les infections cutanées

Elles se manifestent sous forme de folliculite à pyocyanique et surviennent chez les usagers des bains de piscines publiques qui n'auraient pas été chlorées de façon adéquate (27) Ces patients présentent une éruption sur les lombes et les fesses et assez souvent une otite externe et une mastite.

- les infections chez les immunodéprimés ou après traumatisme

Chez les immunodéprimés :

Ces infections sont souvent très graves à cause d'une pathologie préexistante : cancer, diabète, maladie pulmonaire, maladie cardiaque...

Chez les traumatisés :

Les cellules sont détruites et il existe une porte d'entrée du germe (brûlures, plaies infectées). Il y a aussi le fait qu'ils peuvent subir une intervention chirurgicale ou instrumentale (cathéter, dialyse, sonde).

Dans ces deux cas, les pathologies observées sont : la surinfection par le bacille pyocyanique des plaies et brûlures surtout étendues, les bronchopneumonies, les otites externes malignes, les infections oculaires, les septicémies.

3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental (58)

Le bacille pyocyanique est habituellement peu actif chez l'animal immunocompétent mais par contre, très virulent chez l'homme immunodéficient. Ces essais d'infections expérimentales servent à reproduire les infections humaines permettant ainsi :

- d'évaluer la virulence des souches et le rôle des divers facteurs de virulence,
- d'apprécier le rôle des défenses immunitaires de l'hôte,
- de mesurer l'activité thérapeutique des antibiotiques in vivo.

L'expérience nécessite la préparation d'un inoculum de forte concentration à partir de la souche de *Pseudomonas* choisie.

Les voies d'inoculation qui peuvent être utilisées sont la voie buccale (le tube digestif, la trachée), la cornée, la vessie, la voie cutanée, les voies générales (veineuses ou péritonéales).

La dose à inoculer est d'autant plus forte que l'animal est de poids élevé. Les animaux sensibles sont le cobaye, le lapin, la souris.

Chez l'animal immunocompétent, l'infection expérimentale ne reflète que très imparfaitement la maladie naturelle. A ce titre, la cornée non lésée résiste à un inoculum de 10^5 bactéries / ml (59) et l'inoculation locale d'une dose inférieure à la DL50 crée une réaction inflammatoire initiale qui régresse en quelques jours et la généralisation ne se produit pas.

Pour bien apprécier le pouvoir pathogène expérimental, l'animal est mis en immunodépression par des procédés comme l'utilisation de substances neutropéniques (vincristine, moutarde azotée) (16,59), la réalisation d'état traumatique (brûlures, scarifications de la cornée).

Des expériences récentes ont montré que la virulence des souches de *Pseudomonas* était en réalité très variable. Ainsi :

- chez le cobaye : on observe le signe de STRAUS qui est une périorchite purulente. L'étude histologique des lésions montre des images de granulomes tuberculoïdes sans caseum.
- chez le lapin rendu neutropénique par la moutarde azotée, l'ingestion d'eau de boisson contaminée de façon prolongée par *Pseudomonas aeruginosa* crée un syndrome associant conjonctivite, irritation nasal, oedème facial massif, ulcération des muqueuses linguales ou buccales.

3.4. Mode de transmission

◇ Autoinfestation :

- le malade s'infeste à partir du germe préexistant dans sa flore. Ces infestations sont endogènes et sont la conséquence soit d'une perturbation de la flore intestinale, soit d'un déficit immunitaire, soit d'une fragilisation localisée : c'est le cas des malades trachéotomisés, plaies infectées de diabétique le plus souvent, malades cathétérisés ou ayant des sondes à demeure.

◇ Hétéroinfestation : deux cas peuvent être retenus :

- infestations des hommes par les animaux. Dans ce cas ce sont des maladies professionnelles très rares et contagieuses qui n'atteignent que les manipulateurs (vétérinaires, bactériologistes).

Exemple : la morve est une maladie pratiquement spécifique des équidés due à *Pseudomonas mallei* découvert par **LOEFFLER** en 1882 (6) ; elle peut être transmise accidentellement à l'homme (surtout aux vétérinaires).

◇ exinfestation :

- la transmission du bacille pyocyanique à un malade hospitalisé à partir d'une source extérieure est réalisée le plus souvent par des végétaux, soit les fleurs coupées (l'eau de vase) soit les fruits et surtout les légumes crus ou les salades (tomates, carottes, laitues, radis...)

D'après **KOMINOS et coll.** (59), un patient qui mange une portion de salade, de tomate peut ingérer jusqu'à 5 000 cellules de *Pseudomonas aeruginosa*.

3.5. Les sujets sensibles

Pseudomonas aeruginosa étant un germe "opportuniste" il n'est pas pathogène pour le sujet sain qui possède des barrières normales de défense. Mais l'infection devient possible dans certains services où les patients sont très réceptifs.

- les unités néonatales (prématurés, nouveaux nés, nourrissons),
- les services pour personnes âgées atteintes d'infections graves, chroniques, métaboliques, les unités de soins intensifs pulmonaires, urologiques, cardiaques, ophtalmologiques,
- en traumatologie (blessés, accidentés, brûlés),
- en chirurgie on observe des infections post-opératoires (lors des greffes...),
- en cancérologie où les patients subissent un traitement immunosuppresseur.

Enfin ces infections peuvent se retrouver chez les femmes enceintes et aussi en cas de traitement prophylactique ou curatif des malades par des antibiotiques à large spectre qui contribuent à l'augmentation de la fréquence du germe.

3.6. Facteurs de risque

Les infections aiguës à *Pseudomonas aeruginosa* surviennent essentiellement à l'hôpital. Par exemple, **O' BRIEN et coll. (27)** ont montré que la prévalence des bactériémies à *Pseudomonas* augmentait en fonction de la durée de séjour des patients à l'hôpital.

On peut admettre que, en moyenne, 0,5 % des patients hospitalisés sont victimes d'une infection nosocomiale bactériémique à *Pseudomonas aeruginosa* (17).

Cette prévalence dépend d'une part du site de l'infection (15 à 20 % pour les brûlures, 10 à 15 % pour les infections respiratoires basses et urinaires), d'autre part, du niveau technologique médical et du recrutement des patients (7 % des bactériémies surviennent dans les C.H.U. contre 2 % dans les autres hôpitaux).

CHAPITRE IV. : ETUDE BACTERIOLOGIQUE

4.1. Caractères morphologiques et ultrastructure (24, 27)

4.1.1. Caractères morphologiques généraux

Les bacilles du genre *Pseudomonas* ont la forme de bâtonnets, rigides droits avec des extrémités arrondies. Ils mesurent $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ et sont oxydase positive.

Ils sont mobiles et leur mobilité est due à des flagelles (25nm de diamètre) d'implantation polaire. Le nombre de flagelles peut varier de 1 à 10.

Leur respiration est de type aérobie stricte.

Leur respiration anaérobie se fait par les nitrates mais ce caractère n'est pas constant, il est caractéristique de certaines espèces *P. aeruginosa*, *P. stutzeri*, *P. Pseudomallei* ou de certains biotypes, B, C et F de *P. fluorescens*.

4.1.2. Ultrastructure (19)

La structure de la barrière cellulaire de *Pseudomonas* est similaire à celle des entérobactéries. Le germe est limité par deux membranes de PLP (phospholipoprotéine) : une membrane cytoplasmique et une membrane externe entre lesquelles s'intercalent l'espace périplasmique et le feuillet mucocomplexe.

- la membrane externe contient des protéines qui constituent, associées au LPS, les récepteurs spécifiques des bactériophages et bactériocines. Cette membrane est d'une grande importance parce qu'elle est en contact direct avec l'hôte.
- les flagelles peuvent être observés au microscope électronique après une coloration spéciale (technique de **Leifson** ou de **Rhodes**).

D'après **Leifson** (59), il est possible de reconnaître plusieurs formes de flagelles surtout d'après la longueur d'onde complète: flagelle "normal" (longueur égale ou inférieure à $1 \mu\text{m}$) et flagelle bouclé (longueur d'onde supérieure à $3 \mu\text{m}$) et l'aspect des flagelles. Les cellules de *Pseudomonas* peuvent, en conséquence être réparties en quatre types :

- ◇ cellules monotriches : un seul flagelle polaire, (cas de *Pseudomonas aeruginosa*),
- ◇ cellules multitriches : une touffe de 2 à 10 flagelles polaires normaux (*P. fluorescens*),
- ◇ cellules lophotriches : une touffe de 2 à 10 flagelles polaires bouclés (*P. acidivorans* et *P. testosteroni*).
- ◇ cellules aflagellées et immobiles : *P. mallei*
- ◇ les pili sont en position polaire au nombre de 2 à 12 par pôle. Ce sont des filaments fins (5-6 nm de diamètre) et longs de $2,5 \mu\text{m}$, flexibles et élastiques.

Ils sont constitués d'une seule protéine (la piline qui est un polypeptide simple de 144 acides aminés, 15 KDa) et porte 4 déterminants antigéniques.

4.1.3. Structure génomique (59)

L'étude de cette structure génomique a permis d'établir la nouvelle taxonomie du genre *Pseudomonas*.

- Etude du GC %
- hybridation DNA-DNA : permet de créer au sein d'une même espèce soit une homologie à haut niveau, peu ou pas d'homologie interspécifique.
- hybridation rARN-DNA : des souches qui ne semblaient pas apparentées selon l'hybridation ADN-ADN peuvent le devenir selon l'hybridation rARN-DNA. Le niveau d'homologie obtenu est élevé 80-100 %.

La classification par l'hybridation rARN-DNA a permis de créer les groupes et l'hybridation ADN-ADN les sous groupes.

4.2. Caractères cultureux et pigments

4.2.1. Milieux et aspects des colonies

Le bacille pyocyanique se cultive très facilement sur milieu ordinaire, il est incubé entre 30 et 37°C et dégage une odeur aromatique.

Le pH favorable à sa croissance est de 7,2 mais peut varier de 6 à 8.

4.2.1.1. les milieux ordinaires

4.2.1.1.1. Bouillon nutritif

Le bouillon trypticase soja constitue un très bon milieu nutritif, la culture donne en 24 h, un abondant trouble homogène et se recouvre d'un voile fin, blanc et gras (aspect glaireux).

4.2.1.1.2. Gélose nutritive

La gélose Müller Hinton ou la gélose trypticase soja permettent un excellent isolement.

4.2.1.2. Milieu sélectif

- milieu au cetrimide

C'est une gélose rendue sélective pour *Pseudomonas aeruginosa* par l'addition d'un dérivé de l'ammonium quaternaire (le bromure de N-Cetyl-N, N, N-triméthylammonium ou cetrimide). Ce milieu favorise la pigmentation de *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.1.3. Aspect des colonies (59)

Sur ces milieux, il apparaît des colonies d'aspects différents:

arrondies, lisses, convexes, extensives et de dimensions variables, classées comme suit :

- colonies small (type Sm) : elles sont petites, lisses, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier (figure 1).
- colonies fried eggs (180) (type FE) : elles sont larges, rugueuses, avec un centre plus bombé et un bord régulier (figure 2).
- colonies mucoïd (type M) : elles sont muqueuses, bombées, opaques, filantes(figure 3).

Ces colonies s'observent surtout dans les sécrétions bronchiques des enfants atteints de fibrose kystique (ou mucoviscidose).

4.2.2. Les pigments

La production de pigments hydrosolubles, diffusant dans les milieux de culture est l'une des caractéristiques les plus spectaculaires des souches de *Pseudomonas*.

Les types de pigments produits sont :

✧ La pyoverdine : pigment jaune-vert fluorescent en milieu alcalin, soluble dans l'eau et non dans le chloroforme. Elle est produite par le groupe fluorescens. Elle est bien exprimée sur gélose Müeller-Hinton mais aussi sur le milieu King B. elle donne une fluorescence en lumière UV (figure 4).

▪ Les pigments phénaziniques non fluorescents:

✧ La pyocyanine : pigment bleu soluble dans le chloroforme . C'est un pigment spécifique de *Pseudomonas aeruginosa* ; il est bien exprimé sur milieu spécifique (King A).

Ce pigment est un indicateur de pH car il est bleu en milieu neutre et alcalin rouge en milieu acide (figure 5).

✧ La pyorubrine ou aeruginosine A: c'est un pigment rouge-brun bien exprimé sur milieu Kligler-Hajna . C'est aussi un dérivé phénazinique. Cette variété est produite par *Pseudomonas aeruginosa* (figure 6) .

✧ La pyomélanine: c'est un pigment brun-noir ou acajou. Ce pigment est produit par des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées en particulier des lésions purulentes (figure 7).

Les souches de *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas mendocina* produisent souvent des colonies pigmentées en jaune ou brun clair. Ce pigment est non diffusible et peut être dû soit à la présence de caroténoïdes soit à une abondance de cytochromes et de flavines. Il existe des espèces apigmentées plus ou moins isolées en particulier chez des sujets traités de façon partiellement efficace par certains antibiotiques.

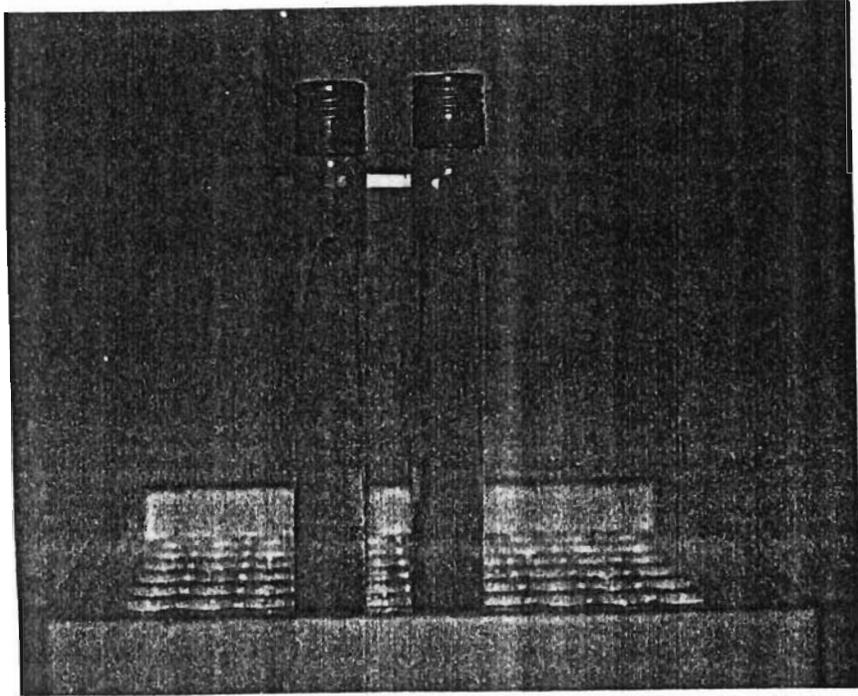


Figure 4: Pyoverdine

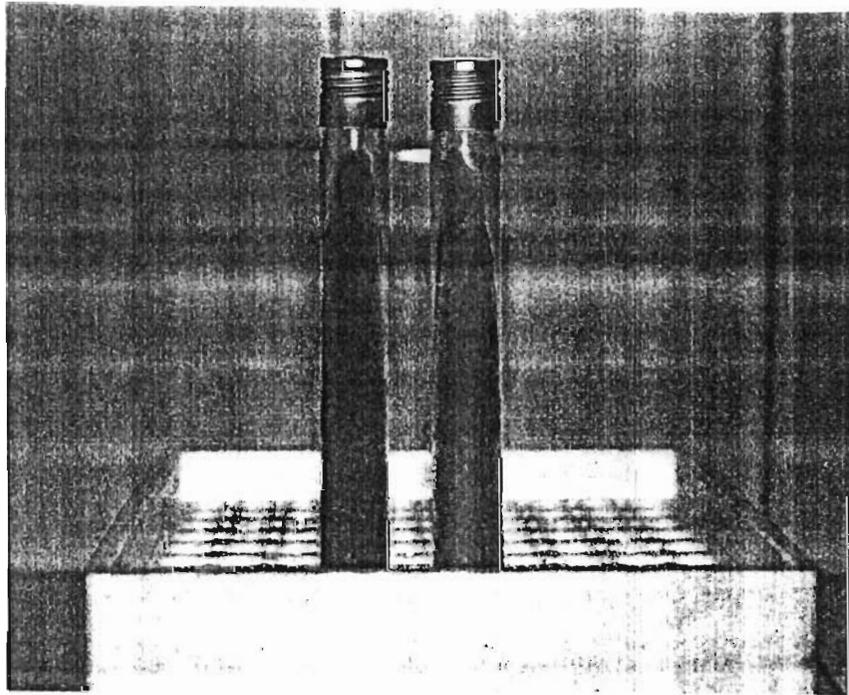


Figure 5: Pyocyanine

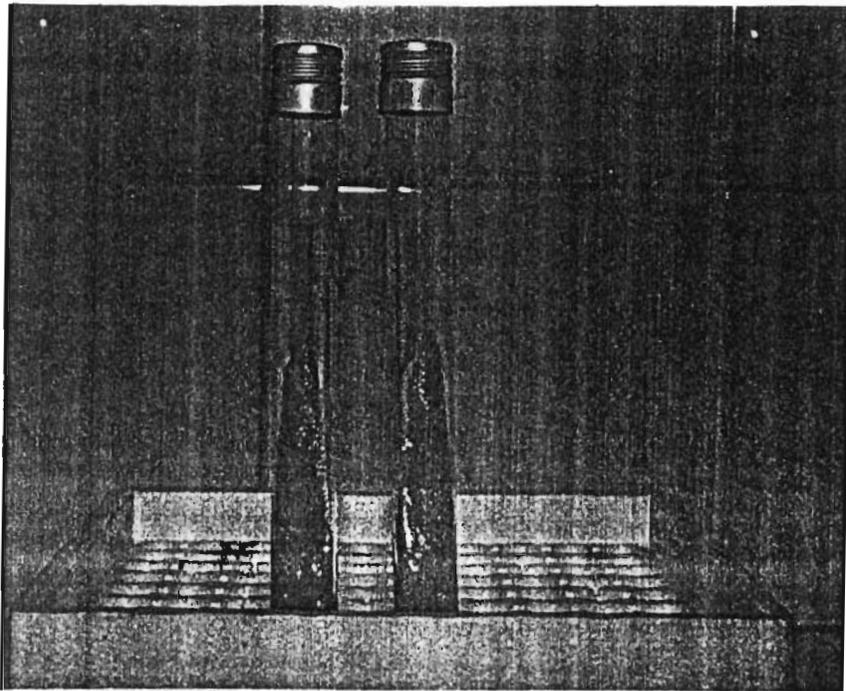


Figure 6: Pyorubrine

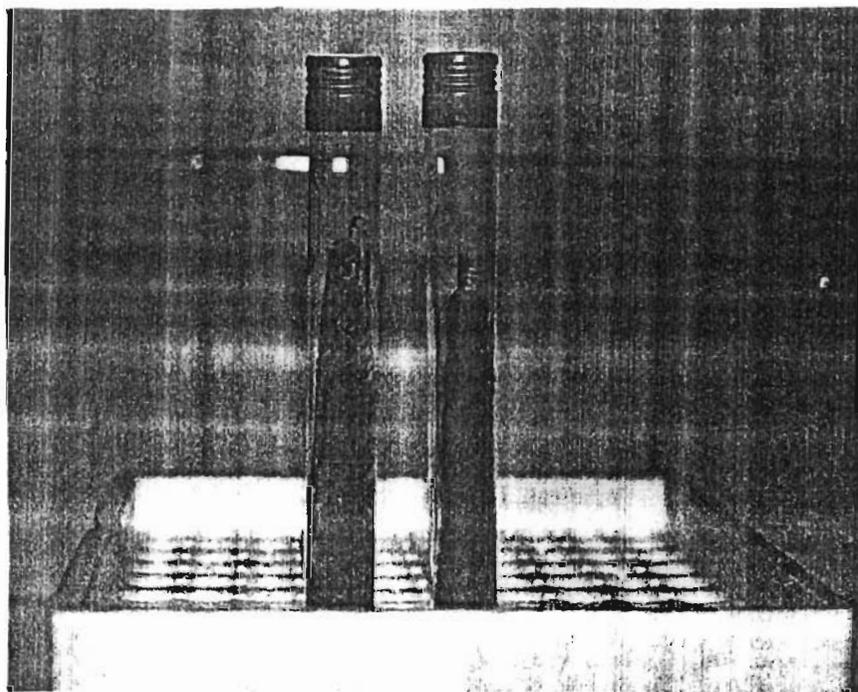


Figure 7 : Pyomelanine

4.3. Caractères biochimiques.

Les caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* sont étudiés de préférence à 30°C.

4.3.1. Propriétés métaboliques :

4.3.1.1. Métabolisme respiratoire.

Le bacille pyocyanique est aérobie strict, il peut vivre en anaérobiose dans un milieu contenant des nitrates (milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate). Le type respiratoire est étudié avec la gélose viande-foie (VF).

Il possède une catalase et un cytochrome oxydase qui sont des enzymes respiratoires.

4.3.1.2. Métabolisme glucidique.

Les glucides sont une source d'énergie essentielle. Leur catabolisme est oxydatif.

4.3.1.3. Métabolisme protidique .

De nombreuses espèces de *Pseudomonas* sont activement protéolytiques. *Pseudomonas aeruginosa* liquéfie rarement la gélatine, peptonise en deux ou trois jours la caséine du lait tournesolé ; le sérum et l'albumine de boeuf coagulés sont digérés en 24 à 48 heures.

L'hydrolyse de l'amidon est spécifique de certaines espèces : *Pseudomonas stutzeri* et *Pseudomonas pseudomallei*.

4.3.1.4. Métabolisme lipidique.

Il existe chez le genre *Pseudomonas* une lécithinase C recherchée sur gélose au jaune d'oeuf. Cette réaction est fortement positive chez certaines espèces telles que *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas pseudomallei*.

D'autres caractères métaboliques permettent de définir le genre *Pseudomonas* et l'espèce *aeruginosa*:

- Réduction des nitrates en nitrites puis azote gazeux.
- L'abondante production d'ammoniac lors des cultures en eau peptonée.
- L'absence de la production d'indole dans le milieu urée-indole .
- La présence d'arginine dihydrolase (ADH).
- L'absence de lysine ou d'ornithine décarboxylase ODC (sauf *P. pickettii*) et LDC (sauf *P. maltophilia* et *P. cepacia*).

Le test à l'ONPG ou recherche de l'ONPG dihydrolase:

POIDRON et coll. (44) ont précisé la localisation périplasmique de cette enzyme et en ont étudié les différentes propriétés.

VIEU J.F. et VIEU M. (61) ont essayé de préciser dans quelle mesure la relation entre séro groupe O:11 et activité ONPG hydrolase est constante . Le test à l'ONPG est une étude de la dégradation du lactose, on l'appelle aussi la recherche de la bêta-galactosidase.

4.3.2. Les milieux d'identification biochimique.

On utilise le portoir réduit de **LE MINOR** :

- milieu Kligler-Hajna
- milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate
- milieu Citrate de Simmons
- milieu Urée-Indole de FERGUSON
- milieu Lysine-Fer (LDC)
- milieu à l'Ornithine-Mobilité (ODC)
- milieu à l'argine dihydrolase (ADH)

Les caractères biochimiques sont regroupés dans le tableau ci-après:

MILEUX	CARACTERES BIOCHIMIQUES	
Urée - Indole	Urée Indole	- ou + -
Mannitol - Mobilité	Mannitol Mobilité	- +
Kligler - Hajna	Lactose Glucose H ₂ S Gaz ONPG	- - - - - ou + (0 : 11)
Lysine décarboxylase	LDC	-
Citrate de Simmons	Citrate	- ou +

TABLEAU N°3 : CARACTERES BIOCHIMIQUES POUR L'IDENTIFICATION des Pseudomonas

4.4. Les toxines et enzymes sécrétées.

Pseudomonas est capable de produire de nombreux métabolites diffusibles . Ces substrats sont capables de jouer un rôle soit dans la virulence de la bactérie soit dans la protection contre la maladie. La première étude globale a été faite par **LUI et coll.** (59).

On distingue principalement des protéases, des hémolysines, des toxines protéiques en particulier l'exotoxine A .

4.4.1. Les enzymes.

◇ Les protéases.

Au moins 90% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont une activité protéolytique .

La toxicité générale des protéases est modérée. La DL50 est de 60 à 400 µg pour la souris. Leurs effets in vivo sont localisés dans le tissu sous-cutané et provoquent une hémorragie locale en quelques minutes et une nécrose plus tardive.

◇ La phospholipidase C

C'est une enzyme hémolytique. Sa toxicité apparaît faible in vivo. Inoculée par voie sous-cutanée au lapin, elle provoque une réaction inflammatoire limitée, oedémateuse, érythémateuse ou hémorragique ressemblant aux formes cutanées de l'infection naturelle.

4.4.2. Les toxines.

◇ L'exotoxine A :

Elle a été découverte par LIU (27) dans le sang de lapin moribond après inoculation d'une culture vivante.

C'est une toxine protéique létale produite par *Pseudomonas aeruginosa*. C'est le produit le plus toxique avec une DL50 de 0.1 à 0.2 µg pour la souris.

L'injection péritonéale de 5 à 10 DL50 à la souris provoque une leucopénie et une thrombopénie intense avec augmentation du temps de coagulation. La souris meurt en deux jours.

4.5. Structure antigénique et réponse immunitaire

Le bacille pyocyanique possède quatre types d'antigènes:

les antigènes thermostables ou antigènes O , les antigènes thermolabiles ou antigènes H flagellaires , des enzymes protéiques et le "Slime" qui est polysaccharidique .

Le "Slime" est présent surtout chez les colonies de type mucoïd et chez les micro-colonies . Il a des propriétés anti-phagocytaires et de plus empêcherait la pénétration des antibiotiques jusqu'à leur site d'action. L'immunité contre les infections à *Pseudomonas aeruginosa* est sous la dépendance directe d'anticorps humoraux qui sont essentiellement les opsonines .

Chez les sujets immunisés soit par une infection préalable soit par une vaccination polyvalente, les opsonines permettent une phagocytose très active dans le foyer primaire.

La colonisation superficielle du bacille pyocyanique n'induit pas une production significative d'anticorps.

Dans les infections chroniques, il y a une élévation du taux d'anticorps. Dans les infections aiguës, cette élévation est un bon pronostic mais ne l'est pas dans la mucoviscidose ou les immuns-complexes contribueraient à la destruction tissulaire.

L'immunité cellulaire constitue aussi un facteur important dans la défense contre les infections à bacille pyocyanique .

4.6. Marqueurs épidémiologiques (59)

L'étude épidémiologique des infections à *Pseudomonas* a permis de développer des méthodes de typage : biotypie, sérotypie, antibiotypie.

4.6.1. Pyocynotypie (60)

Les pyocynes élaborées par *P. aeruginosa* peuvent être utilisées comme marqueurs épidémiologiques. La pyocynotypie est la méthode la plus sensible pour étudier les épidémies hospitalières mais un peu plus compliquée à mettre en oeuvre. Elle consiste à tester la sensibilité d'une souche inconnue à des pyocines produites par des souches de référence.

On peut aussi procéder dans l'autre sens.

La pyocynotypie peut être modifiée in vivo par antibiothérapie.

La méthode standard est celle de **GILLIES et GOVAN (1966)** (16) basée sur 13 souches de référence.

4.6.2. La sérotypie

Les premières études antigéniques de *P. aeruginosa* ont montré qu'un typage de cette bactérie par agglutination était possible.

Ce typage concerne les antigènes thermostables. La première étude systématique des antigènes thermostables a été réalisée en 1957 par **HABS** (22).

Avec des lapins inoculés par des suspensions bactériennes chauffées à 120°C, HABS obtient des sérums anti-O capables d'agglutiner la souche homologue.

L'agglutination se fait sur lame avec des cultures de 16 à 18 heures. Il existe 16 groupes antigéniques.

4.6.3. La biotypie(20).

C'est l'identification des souches par des caractères biochimiques. Ces caractères peuvent être communs à plusieurs bactéries et on connaît mal leur stabilité génétique. La biotypie se fait par la recherche de l'orthonitrophenyl β galactoside perméase. La biotypie a un intérêt limité.

4.6.4. Antibiotypie

Le profil antibiotique observé dans l'antibiogramme peut aider à l'identification d'une souche. La résistance naturelle à un antibiotique conduit à parler de phénotype de résistance, mais des modifications peuvent apparaître au cours de l'antibiothérapie et l'interprétation sera nuancée.

4.6.5. Lysotypie (60)

Le bacille pyocyanique peut être lysé par de nombreux phages lytiques. Presque toutes les souches de *P. aeruginosa* sont lysogènes et souvent polylysogènes.

Une même souche peut héberger sur le chromosome ou sur un plasmide jusqu'à 8 ou 10 phages tempérés (**Holloway et Krish-napillai**) (59).

La lysotypie est recherchée chez les souches de *P. aeruginosa* isolées des fibroses kystiques (mucoviscidoses). La lysotypie apparaît trop sensible et une différence de sensibilité d'au moins 2 phages sera nécessaire pour affirmer que deux souches ne sont pas épidémiologiquement identiques.

CHAPITRE V : SENSIBILITE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

5.1. Notion de résistance

La résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique est définie comme étant la capacité de cette souche de se multiplier dans une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la majorité des souches appartenant à la même espèce.

5.1.1. Résistance naturelle

Certaines souches sont spontanément résistantes à certains antibiotiques, c'est le phénomène de résistance naturelle.

5.1.2 Résistance acquise

Des souches sensibles à certains antibiotiques peuvent par la suite devenir résistantes, dans ce cas on parle de résistance acquise. Celle-ci se fait généralement par mutation ou par transfert de gènes.

5.2. Mécanisme de résistance

5.2.1. Mécanisme biochimique

5.2.1.1. Bases génétiques de la résistance (57)

Les β lactamases des bactéries à Gram négatif peuvent être de déterminisme chromosomique ou plasmidique. Elles sont inductibles ou constitutives. Leur localisation est périplasmique. Elles peuvent être soit dirigées vers les pénicillines, soit vers les céphalosporines, soit de large spectre.

- résistance chromosomique

Elle est due à des mutations. Une mutation est une modification rare spontanée (induite par des agents mutagènes) pouvant affecter un certain nombre de caractères bactériens. Le DNA (l'acide desoxyribonucléique) chromosomique est le support du code génétique. Une mutation peut être une délétion, une substitution ou une addition de gène ; ce qui conduit à un décalage dans la lecture du code.

Les β lactamases chromosomiques sont soit des pénicillinases soit des céphalosporinases :

- ◇ les pénicillinases chromosomiques hydrolysent l'ampicilline et la carbénicilline. Le phénotype de résistance de pénicillinase à bas niveau est ampicilline R, carbénicilline R, céfalotine S ou I, amoxicilline + acide clavulanique R . Elles sont retrouvées chez les Klebsiella.



✧ Les céphalosporinases chromosomiques hydrolysent les céphalosporines de 1ère et 2ème génération, à un moindre degré les aminopénicillines (ampicilline) leur phénotype de résistance est amoxicilline R, carbénicilline R, amoxicilline + acide clavulanique R, céfalotine R.

Ce mode est très important chez *P. aeruginosa*

- Résistance plasmidique.

Ce sont des plasmides R qui sont à la base de cette résistance. Un plasmide est un morceau d'ADN double-brin pouvant porter un grand nombre de gènes. Il est extra-chromosomique.

Chez *P. aeruginosa*, on connaît une trentaine de plasmides dont 11 codent pour la résistance à la carbénicilline, 3 pour la gentamicine et 4 à la fois pour les deux antibiotiques.

Une dizaine d'enzymes sont définies sur des plasmides de bactéries à Gram négatif.

Les β lactamases TEM-1, TEM-2 et HMS-1 sont des enzymes à large spectre et ont une activité hydrolysante touchant l'ampicilline, la carbénicilline, les céphalosporines de 1ère et 2ème génération.

Les β lactamases OXA-1, OXA-2, OXA-3, OXA-4, OXA-5, OXA-6 hydrolysent les isoxazolyl-pénicilline et l'ampicilline.

Les β lactamases PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE-4 hydrolysent l'ampicilline et la carbénicilline. Elles sont essentiellement retrouvées chez *P. aeruginosa* et sont responsables de résistance à la carbénicilline.

Parmi les souches de *P. aeruginosa* résistantes à la carbénicilline et qui sont β lactamases positives, la fréquence des différentes β lactamases constitutives sont respectivement de PSE-1 (carb-2) 53,8 %, OXA 30,5 % et TEM 8,7% (**PHILIPPON A. et coll (43), 1984**).

- Résistance mixte

Les deux mécanismes précédents sont impliqués, il y a une double résistance par mutation et par plasmide.

- Résistance croisée

Lorsqu'un germe est réfractaire à un antibiotique, il le devient pour d'autres antibiotiques de la même famille ; on parle de résistance croisée.

5.2.1.2. Classification des bêta-lactamases

Les classifications des bêta-lactamases sont nombreuses, variées et sont faites selon certains critères (tableau 4 et 5).

- le profil du substrat
- la technique d'isoélectrofocalisation sur gel de polyacrylamide
- Le point isoélectrique
- les inhibiteurs (ions chlorures, cloxacilline, carbénicilline, parachloromercuribenzoate)
- le déterminisme génétique
- le poids moléculaire.

MEDIATION	TYPE	Classe	Inductible	PRINCIPAUX GERMES
CHROMO	Céphalosporinase	I	+	Entérobacter, Serratia, Proteus
		I	+	E. coli, S. sonnei, B. fragilis
SOMI	Pénicillinase	II	-	Proteus mirabilis Pseudomonas thomassii
QUE	Large Spectre	IV		Klebsiella, Bactéroïdes
PLAS	TEM	III	-	TEM-1, TEM-2
MIDI	OXA	V	-	OXA-1, OXA-2, OXA3
QUE	PSE		-	PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE4-4

TABLEAU N°4 : CLASSIFICATION DES BETA-LACTAMASES DES BACILLES A GRAM NEGATIF DE RICHEMOND ET SYKES (3, 35)

TEM : D'après Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée

SHV : Sulphydryl variable

HMS : HEDGES, MATTHEW et SMITH

PSE : Pseudomonas specific enzyme

OXA : Oxacillinase

MATTEW	MITSUHASHI	PITTON	LIBIA PHILIPPON	RICHMOND et SHAKES
Céphalosporinase	Céphalosporinase			I
TEM-1	TYPE Ia	TEM-1 Type1		IIIa
TEM-2	TYPE Ib			IIIa
HSV-1		TEM1 Type2		IV
HMS-1				
OXA-1	TYPE II			Va
OXA-2	TYPE III			Vb
OXA-3				V
OXA-4				
OXA-5				
OXA-6				
PSE-1	TYPE IV		CARB-2	V
PSE-2				V
PSE-3			CARB-4	Ve
PSE-4			CARB-1	Vd

TABLEAU N° 5 : RELATION ENTRE LES DIFFERENTES CLASSIFICATIONS DE BETA-LACTAMASES (3,35)

5.2.2. Mécanisme moléculaire de la résistance

5.2.2.1. Résistance aux β Lactamines

Chez les bactéries à Gram négatif, trois mécanismes sont possibles.

- ✧ pénétration à travers la membrane externe
- ✧ modification des PLP par mutation, rare mais qui peut exister chez le bacille pyocyanique
- ✧ l'hydrolyse enzymatique de la liaison β lactame par production de β lactamases variées (pénicillinases-céphalosporinases) d'origine chromosomique ou plasmidique.
Ce mécanisme est de loin le plus fréquent.

Chez *P. aeruginosa*, les enzymes d'origine chromosomique et plasmidique sont intracellulaires et habituellement constitutives.

Le clivage du cycle des β lactames par les β lactamases est représenté à la figure N° 8

5.2.2.2. Résistance aux aminosides

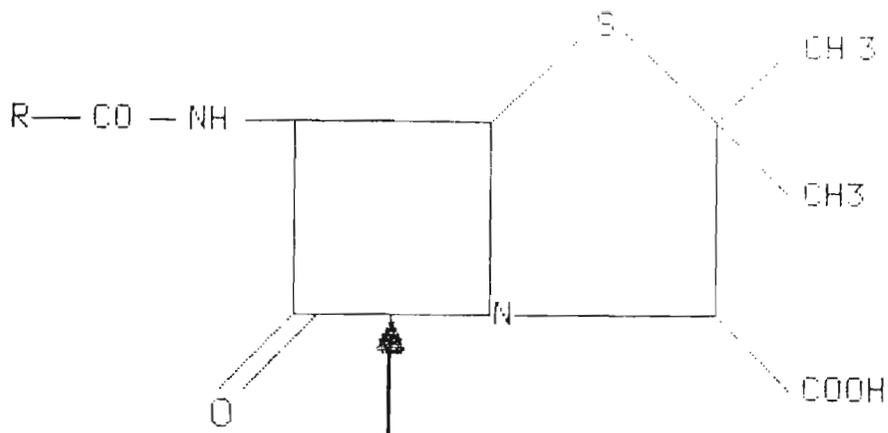
Les aminoglycosides sont classés en deux groupes selon leur structure chimique : streptomycine et spectinomycine caractérisées par la présence d'un cycle streptidine. Tous les autres aminosides possèdent un noyau streptamine.

Leurs mécanismes de résistance sont :

- ✧ ceux dus aux **mutations** chromosomiques très rares mais de niveau très élevé. Il s'agit essentiellement de la modification de la sous-unité 30s du ribosome qui ne fixe plus les antibiotiques.
- ✧ ceux dus aux **plasmides** sont les plus fréquents. Les plasmides codent pour les enzymes modificateurs des aminosides. L'action de ces enzymes nécessite de l'énergie par ATP ou l'acétyl coenzyme A.
Ces enzymes vont interférer dans le système de transport des antibiotiques.

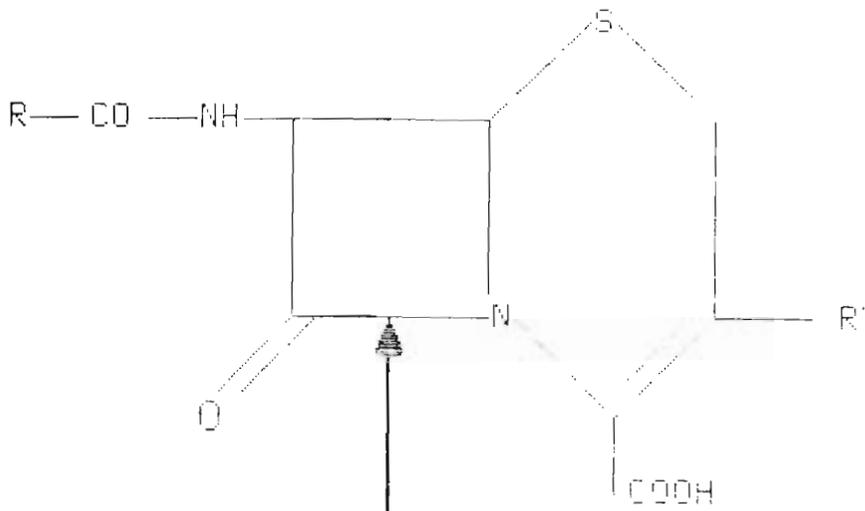
On distingue trois classes selon le type chimique.

- les aminoglycosides acétyl-transférases (AAC) dont 11 ont été décrites. Il y a transfert d'un radical acétyl sur les groupements aminés des aminosides.
- les aminoglycosides adényl-transférases (AAD) dont 5 ont été décrites. Un groupe adényl se fixe sur les groupements OH.
- Les aminoglycosides phosphoryl transférases (APH) dont 7 ont été décrites ; les radicaux OH sont phosphorylés pour chacune de ces classes. Il y a plusieurs types d'enzymes.



PENICILLINES

Site d'action Bêta- Lactamases



CEPHALOSPORINES

Site d'action des Bêta-lactamases

Figure 8: sites d'action des bêta-lactamases.

A titre d'exemples : AAD2 inactive la gentamicine, la tobramicine et la kanamicine ; APH3 n'inhibe que la streptomycine.

- un troisième mécanisme peut intervenir : la perméabilité de la paroi aux aminosides qui est retrouvée surtout chez les souches à niveau de résistance faible.

5.2.2.3. Résistance aux quinolones

Pour l'acide nalidixique et pour les autres quinolones, la résistance se fait par altération du site d'action. Trois mutations au niveau de l'ADN gyrase sont connues. La mutation nal A est la plus fréquente et confère une résistance à haut niveau à l'acide nalidixique.

Sur *P. aeruginosa* l'activité de la norfloxacin est supérieure à celle de la péfloxacin, la résistance aux β lactamines antipycyaniques semble augmenter le potentiel de résistance aux nouvelles quinolones.

5.2.2.4. Résistance aux sulfamides

L'essentiel de cette résistance est de nature plasmidique par synthèse d'une dihydropteroate-synthétase plasmidique.

CHAPITRE VI : DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A PSEUDOMONAS **(20)**

Les infections à bacille pyocyanique peuvent revêtir différentes formes cliniques allant de la simple surinfection des plaies, aux infections graves généralisées à pronostic sévère.

Les infections les plus fréquentes sont les infections urinaires, pulmonaires, cutanées, ORL, oculaires, les endocardites, les ostéites.
D'autres sont plus rares : les gastroentérites et méningites.

6.1. Les infections urogénitales

Ce sont les plus fréquentes. Elles sont en recrudescence, ne sont jamais primitives mais toujours secondaires à une exploration des voies urinaires : sonde vésicale, sonde uréthrale à demeure ou intervention rénale, prostatique, vésicale.

STEG et ALBOUKER (53) donnent une très bonne description de l'infection urinaire dans laquelle ils soulignent l'importance du rôle des examens locaux dans la survenue de ces infections.

L'âge avancé de certains malades, l'antibiothérapie et la fréquence d'anomalies au niveau de l'appareil urinaire jouent un rôle capital dans l'apparition de ces infections.

Le diagnostic de l'infection urinaire à *P. aeruginosa* se fait par l'examen cytbactériologique des urines.

Les infections urinaires à bacille pyocyanique n'évoluent pas spontanément vers la guérison et elles ont une allure asymptomatique. En dehors des brûlures mictionnelles, de la pollakiurie et la dysurie, elles peuvent être totalement inapparentes. Cependant, les infections inapparentes peuvent évoluer vers une bactériémie ou vers une orchépididymite chez l'homme.

6.2. Les infections pulmonaires

Les bronchopneumonies à bacille pyocyanique ne représentent que 2 à 3 % des pneumonies et elles s'observent surtout chez les patients atteints de fibrose kystique, de pneumopathies chroniques, de diabète, de cancer, de leucémie, et chez les trachéotomisés. Ces pneumonies sont très rarement primitives chez le sujet sain.

Les formes cliniques sont le plus souvent des lésions pulmonaires hémorragiques et nécrotiques alors que les réactions inflammatoires sont souvent absentes.

Dans la fibrose kystique, la colonisation des bronches et des poumons par *P. aeruginosa* est presque inéluctable au cours de l'évolution.

Les souches de type FE sont rapidement remplacées par des variants muqueux qui deviennent, après quelques mois la flore dominante des sécrétions bronchiques.

Les souches M déterminent peu à peu une atelectasie pulmonaire compliquée éventuellement de dilatation des bronches et de pneumonie.

Le diagnostic de ces infections bronchiques se fait par l'analyse des expectorations ou du liquide obtenu par ponction pleurale.

6.3. Les infections cutanées.

Elles sont regroupées en deux : l'infection des plaies et brûlures et le gangreosum d'EHLERS qui est caractéristique du bacille pyocyanique.

✧ Chez les brûlés : l'infection débute par une escarre qui s'étend aux tissus de voisinage et peut conduire à une septicémie brutale.

✧ Ecthyma gangrenosum est spécifique de *Pseudomonas aeruginosa* et se manifeste par des bulles hémorragiques qui se rompent et se nécrosent. Ces bulles sont localisées au niveau de l'aîne, du dos, des mains, des pieds et des fesses.

Cette infection fréquente chez les leucémiques, succède à une invasion cutanée et une septicémie.

Il existe d'autres formes cliniques : "ongle-vert" avec peri-onyxis, intertrigo des orteils.

Le sérotype O:11 est le plus souvent en cause dans les infections cutanées en générale en association avec les souches de *Staphylococcus*. Le diagnostic se fait par écouvillonnage des plaies et des bulles.

6.4. Les gastroentérites.

Les gastroentérites surviennent sous formes d'épidémies dans les unités néonatales (prématurés, crèches).

Elles sont sévères. La mort survient dans un tableau d'acidose par déshydratation. Les entérites d'origine hydrique, dite fièvre de Shanghai sont provoquées par ingestion d'eau potable, accidentellement contaminée par *Pseudomonas aeruginosa*. Dans ce cas le bacille est isolé par coproculture.

6.5. Les endocardites.

La responsabilité du bacille pyocyanique est faible : 1% des cas.

Les endocardites s'observent surtout dans les interventions chirurgicales : cathéter, artériographies, hémodialyse.

Dans ce cas le bacille est isolé par hémoculture.

6.6. Les septicémies.

La septicémie à bacille pyocyanique est la forme grave car mortelle dans plus de la moitié des cas. Le plus souvent elle succède à une infection localisée à *Pseudomonas* : cutanée , pulmonaire, génito-urinaire.

Plus de 80% des septicémies à *Pseudomonas* apparaissent à l'hôpital dont 50% après une intervention chirurgicale ou instrumentale .

Le tableau clinique peut montrer un choc brutal toxi-infectieux mortel en quelques heures ou une forme moins brutale avec coagulation intravasculaire disséminée, une jaunisse ou des hémorragies intestinales.

6.7. Les méningites.

Ce sont aussi des infections graves dues aux *Pseudomonas* (2% des cas).

La plupart des méningites à *Pseudomonas* sont secondaires soit d'une septicémie soit d'une infection par propagation à partir d'une lésion voisine : otite maligne externe , sinusite; soit après des interventions neurochirurgicales. L'isolement du germe est fait à partir du liquide céphalorachidien.

6.8. Les infections ostéo-articulaires.

Les souches de *Pseudomonas* sont responsables de 10% des ostéites et 20% des arthrites. Les tableaux cliniques d'infections osseuses sont différentes suivant le siège et le type:

- ostéomyélite aiguë avec fièvre élevée et douleur.
- arthrites de l'épaule et de l'articulation sterno-claviculaire avec douleur, fièvre et inflammation.

La ponction du liquide articulaire permet l'isolement du germe.

6.9. Les infections oculaires.

L'infection oculaire à *Pseudomonas* est rare mais grave car entraîne des ulcères cornéens (dans 10 à 20% des cas). Elle est fréquente chez les cancéreux sans cause locale apparente, les utilisateurs de lentilles de contact éventuellement souillées par des liquides d'entretien contaminés, l'emploi de collyres accidentellement contaminés.

L'isolement du germe se fait à partir du prélèvement effectué par écouvillonnage oculaire.

6.10. Infections O.R.L.

Le bacille pyocyanique n'est pas saprophyte normal du conduit auditif externe. Selon une enquête datant de 1952 (20), cette infection est retrouvée chez 1% d'individus sains.

✧ L'otite externe maligne, décrite par CHANDLER en 1968, est observée principalement chez les diabétiques âgés. Une mauvaise vascularisation, par atteinte artérielle athéromateuse, constituerait le facteur principal favorisant l'infection.

Les manifestations vont d'un simple écoulement purulent dû à un foyer inflammatoire qui s'étend aux régions voisines (nerf facial, mastoïdes, os du crâne).

La mortalité atteint 50% si le traitement n'est pas correct.

✧ Récemment une nouvelle forme d'otite externe à bacille pyocyanique a été décrite sous le terme "d'oreille des plongeurs".

Elle s'observe après une immersion prolongée dans de l'eau tiède ; par exemple dans les bains de piscines publiques ; chez les plongeurs de stations de recherche pétrolière en Mer du Nord (27).

✧ L'otite moyenne aiguë à bacille pyocyanique est rare, mais des cas ont été rapportés chez des nourrissons de moins d'un an ayant reçu une antibiothérapie prolongée pour d'autres infections.

Le germe est isolé à partir du pus d'otite.

2ème PARTIE:

TRAVAIL PERSONNEL

**MATERIEL ET
METHODES**

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.

1.1. Origine des souches.

Notre étude porte sur 96 souches de *Pseudomonas* d'espèces différentes, isolées sur une période d'une année (1991-1992), dans un contexte non épidémique, à partir de produits pathologiques variés de différents centres hospitaliers (Hôpital Aristide Le DANTEC, Hôpital d'Enfants Albert ROYER) et d'un laboratoire privé de Dakar (Institut PASTEUR) (tableau 6):

HALD : 91 souches.
HEAR : 2 souches.
IP : 3 souches

Toutes les souches seront étudiées selon leur sensibilité aux antibiotiques, par deux méthodes principalement:

- La méthode des CMI.
- La méthode de l'antibiogramme.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* feront l'objet de typage par trois méthodes : biotypage, sérotypage et antibiotypage.

PRODUITS PATHOLOGIQUES	NOMBRE DE SOUCHES
Urines	53
Pus d'abcès	11
Pus de conjonctivite	1
Pus uréthral	4
Sperme	3
Liquide céphalorachidien	1
Pus d'otite	17
Liquide articulaire	1

**TABLEAU N °6 : FREQUENCE DES SOUCHES DE PSEUDOMONAS
DANS LES PRODUITS PATHOLOGIQUES.**

1.2. Matériel .

1.2.1. Matériel pour isolement et identification des souches de Pseudomonas

1.2.1.1. Milieu d'isolement.

- Müller-Hinton.
- Eosine bleu de méthylène.

1.2.1.2. Galerie LE MINOR.

Utilisée pour l'identification des souches par leurs caractères biochimiques:

- ◇ Kligler-Hajna.
- ◇ Mannitol-mobilité-nitrate.
- ◇ Citrate de Simmons
- ◇ Müller-Hinton
- ◇ Eau peptonée: pour l'extraction de la pyocyanine avec le chloroforme.

1.2.1.3. Api 20 non Entérobactériaceae(figure 9).

1.2.1.4. Disques d'oxydase.

Ces disques contiennent du dinitroparaphénylène-diamine.

L'oxydase est recherchée sur des colonies obtenues à partir de milieux ne contenant pas de glucides fermentescibles (exemple : Müller-Hinton).

1.2.2. Matériel pour antibiogramme.

La méthode de l'antibiogramme utilise :

- ◇ Le milieu Müller-Hinton.
- ◇ Des boîtes de Pétri.
- ◇ Des disques d'antibiotiques de référence
 - Biomérieux.
 - Institut Pasteur.

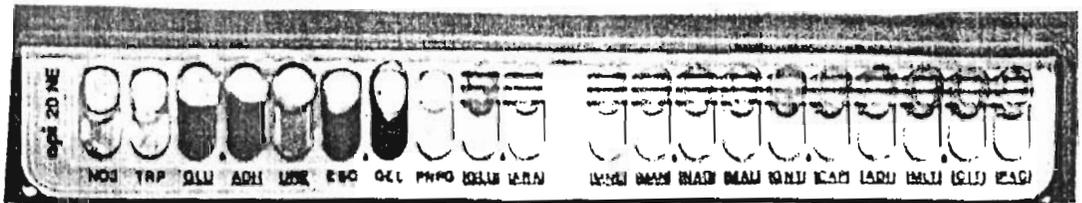


Figure 9: caractères d'identification de Pseudomonas aeruginosa par galerie API

1.2.3. Matériel pour CMI

La méthode des CMI en milieu solide utilise :

- le milieu AM2 (antibiotic médium) de référence Biomérieux,
- des boîtes de Pétri,
- des antibiotiques en poudre ou en solution (Biomérieux et Pasteur)
- PBS (phosphate buffer saline) qui est une solution de tampon phosphate,
- micropipette de 1000 µl,
- embouts stériles,
- portoirs pour tubes, anses, pinces,
- eau physiologique
- vortex,
- appareil de Steers

(référence : DENLEY INOCULATOR MULTIPPOINT A 400)

1.2.4. Matériel pour biotypage

C'est essentiellement les disques d'ONPG (orthonitrophényl bêta-galactaside).
(référence : Diagnostic Pasteur)

1.2.5. Matériel pour sérotypage

✧ plaque d'agglutination

✧ des sérums anticorps anti-O mélangés en groupe ou séparés (référence : Diagnostic Pasteur).

- sérums de groupe :
PMA = P₁ + P₃ + P₄ + P₆
PMC = P₉ + P₁₀ + P₁₃ + P₁₄
PME = P₂ + P₅ + P₁₅ + P₁₆
PMF = P₇ + P₈ + P₁₁ + P₁₂
- sérums individuels de P₁ à P₁₆

✧ colonies de 16 à 24 h

1.2.6. Matériel pour la recherche de bêta-lactamases

La recherche de bêta-lactamases à spectre étroit se fait avec des disques de céfinase.

Le réactif céfinase est constitué de disques de papier stérile imprégnés de céphalosporine chromogène : Nitrocéphine.

1.3. Méthodes

1.3.1. Bactériologie des prélèvements

Les différents produits pathologiques seront ensemencés afin d'isoler le bacille du genre *Pseudomonas*.

Les produits pathologiques sont :

- urines
- pus uréthral
- sperme
- pus d'abcès, d'otite, de conjonctivite
- sang
- LCR

Un schéma global de traitement des prélèvements est proposé au schéma N° 1.

1.3.2. Méthode de biotypage

1.3.2.1. Principe

Elle se fait par la recherche d'un enzyme inductible, la bêta-galactosidase. On utilise comme substrat l'ONPG.

1.3.2.2. Mode opératoire

La colonie prise sur milieu lactosé est mise en suspension dans l'eau distillée, on y ajoute du toluène pour perméabiliser la membrane bactérienne ; on y plonge un disque d'ONPG et on incube à 37°C.

1.3.2.3. Lecture

Si le test est positif, le milieu prend une teinte jaune due à l'orthonitrophénol.

1.3.3. Méthode de sérotypage

1.3.3.1. Principe

Il consiste en la mise en évidence de l'antigène O thermostable de *Pseudomonas aeruginosa* par agglutination.

PRELEVEMENTS

Culture

- . Isolement
 - . Müeller Hinton
 - . Eosine bleu de méthylène

. Identification

- . Oxydase : (+)
- . Galerie le Minor :

Kliger Hajna : g (-), L (-)

Mannitol : (-)

Citrate de simmons : (+)

Eau peptonée : pyocyanine (+) ou (-)
pyoverdine (+) ou (-)

- . Galerie Api

Examen direct

- . Etat frais : bacilles mobiles
- . Gram : négatif

Schéma N°1

1.3.3.2. Mode opératoire

C'est une agglutination sur plaque des colonies de *P. aeruginosa* prélevées directement sur gélose (culture de 16 à 24h).

La souche est d'abord agglutinée avec les sérums de groupe, et si on obtient une agglutination, on continue avec les sérums monospécifiques correspondant à ce groupe.

1.3.3.3. Lecture

L'apparition d'agglutination fine et régulière signifie qu'on est en présence d'un sérotype correspondant au sérum monospécifique qui a servi à l'agglutination.

Il est possible d'avoir des réactions croisées entre O:2 et O:5, O:7 et O:8, O:13 et O:14.

Les sérotypes les plus fréquents sont :

O:1, O:5, O:6 et O:11.

1.3.4. Méthode de réalisation d'un antibiogramme

1.3.4.1. Principe

L'antibiogramme est la détermination de la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens. C'est une technique de diffusion des antibiotiques en milieu solide selon un gradient de concentration.

Il a été préconisé par **CHABBERT** (47).

1.3.4.2. Mode opératoire

Le milieu Müeller Hinton stérile est coulé en boîte de Pétri.

L'inoculum est préparé de façon à avoir une concentration bactérienne de 10^5 bactéries/ml (une goutte de bouillon dans 10 ml d'eau distillée stérile).

Les boîtes sontensemencées par inondation, l'excédent est jeté et la boîte est séchée.

1.3.4.3. Lecture

Elle se fait 24 h après incubation à 37°C. Le diamètre d'inhibition est mesuré et comparé aux valeurs critiques de l'antibiotique correspondant. Les résultats seront portés sous forme (S, I, R).

S = sensible : diamètre supérieur à la valeur critique maximale

I = intermédiaire : diamètre entre les deux valeurs critiques

R = résistant : diamètre inférieur à la valeur critique minimale

1.3.5. Méthode de réalisation de la CMI

1.3.5.1. Principe

Les dilutions croissantes d'antibiotiques sont mises en contact avec les germes et on évalue la plus petite concentration qui inhibe complètement la culture bactérienne. Elle est sensible et reproductible.

1.3.5.2. Mode opératoire

Peser 102,4 mg de poudre d'antibiotique et le dissoudre dans 10 ml de PBS stérile, ce qui revient à une concentration de 10,24 mg/ml.

C'est la solution mère d'antibiotique à partir de laquelle se feront les dilutions.

Numéroter 13 tubes à hémolyse de 1 à 13 et distribuer 1 ml de PBS partout.

1 ml de la solution mère sera mélangé avec 1 ml du tube n°1 ; cela correspond à une dilution au demi, et on continue de demi en demi jusqu'au 13^{ème} tube.

Le dernier millilitre retiré du 13^{ème} tube est jeté. Chaque dilution d'antibiotique sera coulée en boîte avec 19 ml de AM₂, on réalise ainsi une dilution au 20^{ème} avec le milieu.

Dans les boîtes de Pétri, on a des concentrations finales de :

boîte 1 : 256 µg/ml	boîte 8 : 2 µg/ml
" 2 : 128 "	" 9 : 1 "
" 3 : 64 "	" 10 : 0,5 "
" 4 : 32 "	" 11 : 0,25 "
" 5 : 16 "	" 12 : 0,12 "
" 6 : 8 "	" 13 : 0,06 "
" 7 : 4 "	

Les boîtes coulées avec l'antibiotique sont ensuite séchées à l'étuve après solidification de la gélose.

On prépare les suspensions bactériennes de l'ordre de 10⁵ germes/ml.

21 cupules sont remplies avec la suspension bactérienne, puis montées dans l'appareil de Steers.

On ensemence toutes les boîtes avec un témoin (PBS + AM₂) et un témoin (AM₂ seul). L'ensemencement se fait par pointe, on obtient des gouttelettes de 10 µl de suspension bactérienne aux points d'ensemencement. 21 souches sont ensemencées en même temps.

L'incubation se fait pendant 18 h à 24 h à 37° C.

1.3.5.3. Lecture

La lecture se fait macroscopiquement en regardant s'il y a des cultures au point d'ensemencement.

✧ résistant si on a plus de 3 colonies : **R**

✧ sensible si le nombre de colonies est inférieure ou égale 3 : **S**

1.3.5.4. Critères d'interprétation des CMI CALCUL DE LA CMI 50 % et CMI 90 %

C'est la détermination de la médiane par la méthode d'extrapolation linéaire.

CMI 50 : concentration pour laquelle 50 % des souches sont inhibées.

Si X = CMI 50

$$X = \frac{(A-B)}{(C-B)} (Z-Y) + Y$$

A = la moitié des souches inhibées

B = effectifs cumulés nettement inférieurs à A

C = effectifs cumulés immédiatement supérieurs à A

$B < A < C$

Y = CMI 50 de B

Z = CMI 50 de C

CMI 90 : concentration à laquelle 90 % des souches sont inhibées.

Le reste se calcule de la même façon.

1.3.6. Méthode de recherche d'une bêta-lactamase : céfinase

1.3.6.1. Principe

Certaines bactéries ont la propriété de produire des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (céphalosporines et pénicillines) par l'hydrolyse des liaisons amides.

Ce test est très sensible.

1.3.6.2. Mode opératoire

Les disques de céfinase utilisés contiennent de la nitrocéphine.

Les disques sont humidifiés à l'eau distillée et la colonie est mise directement en contact avec le disque de couleur jaune.

S'il existe une bêta-lactamase, la nitrocéphine sera clivée et le chromogène libéré va entraîner une coloration rouge du disque.

1.3.6.3. Lecture - interprétation

Coloration rouge : céfinase positive

incoloré : céfinase négative

Une céfinase positive indique que la souche a une bêta lactamase à spectre étroit.

RESULTATS

CHAPITRE II : R E S U L T A T S

2.1. Répartition des souches selon les espèces

Parmi 96 souches isolées à Dakar à partir de divers produits pathologiques, nous avons 82 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ; c'est l'espèce la plus représentée de cette famille en pathologie humaine. Ensuite viennent les autres espèces moins fréquentes :

- *Pseudomonas fluorescens* (1,2,3) 7
- *Pseudomonas putida* 2
- *Pseudomonas mendocina* 3
- *Pseudomonas stutzeri* 2

Le nombre faible des espèces autres que *P. aeruginosa* nous amène à considérer leur résultat de manière globale au cours de notre analyse.

2.2. Répartition selon les produits pathologiques

Le plus grand nombre des souches de *Pseudomonas* est isolé à partir :

- des urines : 53 souches, soit (55,2 %)
- des pus d'otite : 17 souches soit (17,7 %)
- des pus d'abcès : 11 souches (11,5 %)
- du sang : 5 souches, (5,2 %)
- du pus urétral : 4 souches (4,2 %)
- du sperme : 3 souches (3,2 %)
- du pus de conjonctivite : 1 souche (1 %)
- du liquide articulaire : 1 souche (1 %).
- du liquide céphalo-rachidien : 1 souche (1 %).

2.3. Profil antibiotique des souches de *Pseudomonas* selon la méthode de l'antibiogramme

Dans le souci d'une bonne interprétation des résultats de CMI et d'antibiogramme, nous nous sommes référés au tableau (N° 7) des valeurs critiques.

Ces valeurs délimitent les catégories sensibles, intermédiaires ou résistantes.

- < c = souches sensibles
- > C = souches résistantes
- > c et < C = souches intermédiaires

PROFILS ANTIBIOTIQUES	S	I	R
	$\leq c$	$> c, < C$	$\geq C$
Ampicilline	4	$> 4, < 16$	16
Amoxicilline	4	$> 4, < 18$	18
Amoxicilline + acide clavulanique	4	$> 4, < 16$	16
Ampicilline + sulbactam	4	$> 4, < 16$	16
Aztréonam	4	$> 4, < 32$	32
Céfotaxime	4	$> 4, < 32$	32
Ceftriaxone	4	$> 4, < 32$	32
Ceftazidime	4	$> 4, < 32$	32
Céfopérazone	4	$> 4, < 32$	32
Céfazoline	8	$> 4, < 32$	32
Sulfaméthoxazole + Triméthoprime	2	$> 2, < 8$	8
Amikacine	8	$> 8, < 16$	16
Carbénicilline			128
Imipénem	4	$> 4, < 8$	8
Ciprofloxacine	1	$> 1, < 2$	2

**TABLEAU N° 7 : CONCENTRATIONS CRITIQUES (c et C EN $\mu\text{g/ml}$)
DES ANTIBIOTIQUES TESTES FOURNIES PAR LE
COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE
FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE.**

2.3.1. Profil global

Nous présenterons d'abord des résultats globaux, toutes espèces confondues, ensuite, nous ferons une analyse détaillée sur l'espèce *aeruginosa*.

Les antibiotiques de la famille des pénicillines sont inactifs sur l'ensemble des souches de *Pseudomonas* (résistance à 100 %).

Parmi les céphalosporines de troisième génération, la céftazidime présente le plus grand effet inhibiteur sur les souches de *Pseudomonas* (absence totale de résistance), ensuite viennent la céfopérazone (42 souches sensibles soit 58,3 %), la ceftriaxone (3 souches soit 4,2 %), la céfotaxime (1 souche soit 1,4 %).

La carbénicilline contrairement aux autres antibiotiques de la famille des pénicillines a une activité notable sur *Pseudomonas* (51 souches sensibles soit 70,8 %).

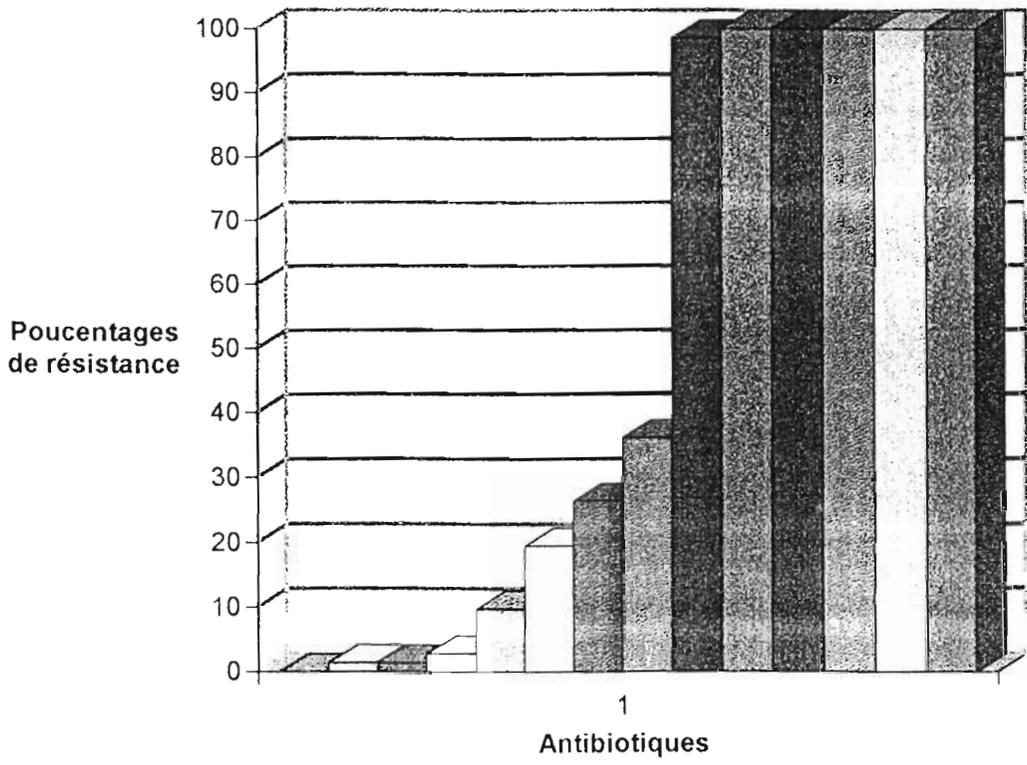
L'imipénem, l'aztréonam, et l'amikacine montrent une puissante activité anti-pseudomonacique avec des chiffres respectifs de :

(70 souches sensibles soit 97,2 %, 51 souches soit 70,8 %, 71 souches soit 98,6 %) :
(tableau N° 8) (figure 10)

ANTIBIOTIQUE	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Amoxicilline + Ac. clavulanique	0	0	0	0	72	100
Amoxicilline	0	0	0	0	72	100
Ampicilline + sulbactam	0	0	0	0	72	100
Ampicilline	0	0	0	0	72	100
Ceftriaxone	3	4.2	43	59.7	26	36.1
Céfotaxime	1	1.4	52	72.2	19	26.4
Ceftazidime	66	91.7	6	8.3	0	0
Céfopérazone	42	58.4	23	31.9	7	9.7
Céfazoline	0	0	0	0	72	100
Sulfaméthoxazole + triméthoprim	0	0	1	1.4	71	98.6
Amikacine	71	98.6	0	0	1	1.4
Carbénicilline	51	70.8	7	9.7	14	19.5
Imipénem	70	97.2	1	1.4	1	1.4
Aztréonam	51	70.8	19	26.4	2	2.8

TABLEAU N° 8 : PROFIL ANTIBIOTIQUE GLOBAL DES SOUCHES DE *Pseudomonas*

PROFIL DE RESISTANCE GLOBALE DES SOUCHES DE PSEUDOMONAS



- | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|
| CAZ | IPM | AMK | ATM | CFP | CARB | CTX |
| CRO | SXT | CFZ | AMP | AMX | AMC | SAM |

Figure N° 10

2.3.2. Profil antibiotique des souches de *P. aeruginosa* (figure N° 11).(tableau N° 9)

2.3.2.1. Les bêta-lactamines

2.3.2.1.1. Les pénicillines.

D'une manière générale toutes les souches de *Pseudomonas* sont insensibles aux antibiotiques suivants: amoxicilline, ampicilline, amoxicillicine + acide clavulanique, ampicilline + sulbactam (100% de résistance).

La carbénicilline est une carboxypénicilline dérivée de la pénicilline. Son pourcentage d'activité est de 75.8 %, ce qui est modéré.

2.3.2.1.2. Les carbapénems.

L'imipénem a de loin la plus grande activité antipycyanique (96.8 %) parmi toutes les nouvelles molécules dérivées de la pénicilline.

2.3.2.1.3. les céphalosporines.

La céfazoline est une céphalosporine de 1ère génération, *Pseudomonas aeruginosa* présente une sensibilité nulle à cet antibiotique.

Les souches présentent des résistances respectives à la céfotaxime et la ceftriaxone de 29,9 % et 32,3 % avec une tendance à la sensibilité intermédiaire plus élevée que la sensibilité totale. L'activité de ces deux céphalosporines est moyenne par rapport celle de la ceftazidime et la céfopérazone qui font partie des dernières nées.

Sensibilité des souches : 91 % pour la ceftazidime et 62 % pour céfopérazone.

2.3.2.1.4. Les monobactams.

L'aztréonam testé sur le bacille pyocyanique montre une activité inhibitrice assez élevée (77.4 %).

2.3.2.2. Les sulfamides.

L'association sulfométhoxazole + triméthoprime est totalement inefficace sur *Pseudomonas aeruginosa*.

2.3.2.3. Les aminosides.

L'amikacine un bon antityocyannique avec un taux faible de résistance (1,6 %).

PROFILS	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
ANTIBIOTIQUES						
Amoxicilline + acide clavulanique	0	0	0	0	62	100
Amoxicilline	0	0	0	0	62	100
Ampicilline + sulbactam	0	0	0	0	62	100
Ampicilline	0	0	0	0	62	100
Ceftriaxone	3	4.8	39	62.9	20	32.3
Céfotaxime	1	1.6	48	77.5	13	20.9
Ceftazidime	57	91.9	3	2.1	0	0
Céfopérazone	39	62.9	17	27.4	6	9.7
Céfazoline	0	0	0	0	62	100
Sulfaméthoxazole + Triméthoprim	0	0	1	1.6	61	98.4
Amikacine	61	98.4	0	0	1	1.6
Carbénicilline	47	75.8	6	9.7	9	14.5
Imipénem	60	96.8	1	1.6	1	1.6
Aztréonam	48	77.4	12	19.4	2	3.2

TABLEAU N° 9 : PROFIL ANTIBIOTIQUE DES SOUCHES DE *Pseudomonas aeruginosa*.

**PROFIL DE RESISTANCE DES SOUCHES DE
P. AERUGINOSA**

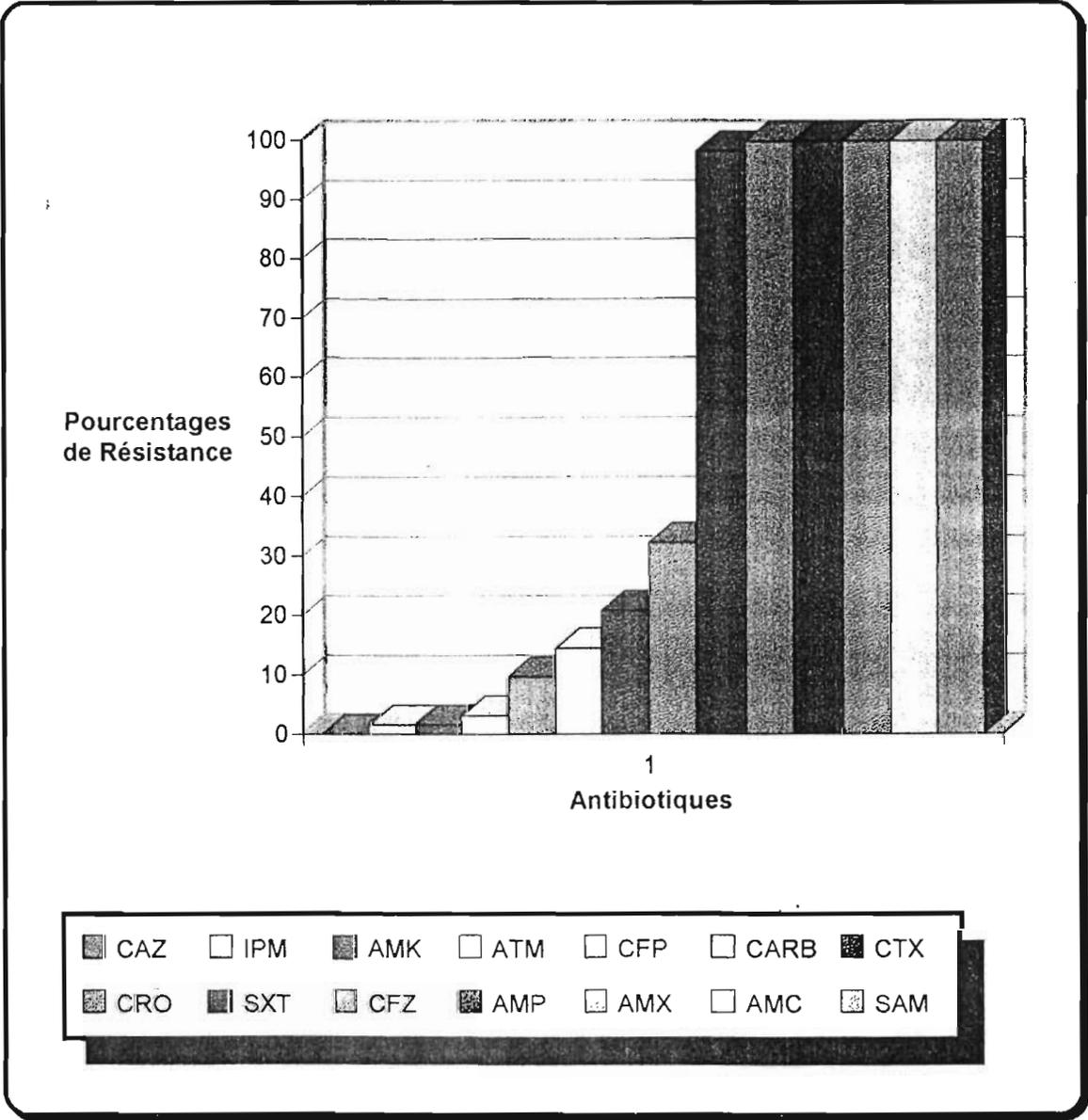


Figure N° 11

2.3.3. : Profil antibiotique des souches de *Pseudomonas fluorescens*,
P. putida, *P. stutzeri* et *P. mendocina* (tableau 10) (figure 12).

2.3.3.1 Les bêta-lactamines.

2.3.3.1.1. Les pénicillines.

L'amoxicilline, l'amoxicilline + acide clavulanique, l'ampicilline + sulbactam présentent une résistance de haut niveau (100 %) sur ces souches.
La carbénicilline possède un effet moindre sur ces souches.

2.3.3.1.2. Les carbapénems.

Les souches de *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. putida* et *P. fluorescens* sont inhibées à 100 % par l'imipénem.

2.3.3.1.3. Les céphalosporines.

La ceftazidime est en tête avec une absence totale de résistance, ensuite vient la céfopérazone qui a 10 % de résistance alors que la céftriaxone et la céfotaxime en ont 60 %.
La céfazoline est totalement inactive.

2.3.3.1.4. Les monobactams.

L'aztréonam a une activité modérée sur les autres souches de *Pseudomonas* testées (30 %).

2.3.3.2. Les sulfamides.

La sulfaméthoxazole + triméthoprime s'avère inefficace sur ces différentes souches de *Pseudomonas*.

2.3.3.3. Les aminosides.

L'amikacine comme l'imipénem est efficace aussi à 100 % sur ce groupe de souches testées.

PROFILS	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
ANTIBIOTIQUES						
Amoxicilline + acide clavulanique	0	0	0	0	10	100
Amoxicilline	0	0	0	0	10	100
Ampicilline + sulbactam	0	0	0	0	10	100
Ampicilline	0	0	0	0	10	100
Ceftriaxone	0	0	4	40	6	60
Céfotaxime	0	0	4	40	6	60
Ceftazidime	9	90	1	10	0	0
Céfopérazone	3	30	6	60	1	10
Céfazoline	0	0	0	0	10	100
Sulfaméthoxazole + Triméthoprime	0	0	0	0	10	100
Amikacine	10	100	0	0	0	0
Carbénicilline	4	40	1	10	5	50
Imipénem	10	100	0	0	0	0
Aztréonam	3	30	7	70	0	0

TABLEAU N° 10 : PROFIL ANTIBIOTIQUE DES SOUCHES DE *Pseudomonas Fluorescens*, *P.putida*, *P.stutzeri* *P. mendocina*.

2.3.4. : Etude comparée des pourcentages de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et des autres espèces aux antibiotiques testés.

2.3.4.1. Les bêta-lactamines.

2.3.4.1.1. Les pénicillines.

Les souches de *P. aeruginosa* et autres espèces présentent toutes le même profil de résistance aux pénicillines (100 %).

La carbénicilline est plus active sur les souches de *P. aeruginosa* (75.8%) que sur les autres espèces testées.

2.3.4.1.2. Les carbapénems.

L'imipénem inhibe fortement les souches de *P. aeruginosa* (96.8 %) et à un degré plus élevé, les autres espèces (100 %).

2.3.4.1.3. Les céphalosporines.

Céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime et céfopérazone ont une activité meilleure sur *Pseudomonas aeruginosa* que sur les autres espèces.

La céfazoline montre une activité nulle sur toutes espèces confondues.

2.3.4.1.4. Les monobactams.

Les souches de *P. aeruginosa* présentent une grande sensibilité (77.4 %) à l'aztréonam, par contre celles de *P. fluorescens*, *P. mendocina*, *P. putida* , *P. stutzeri* ont une sensibilité intermédiaire élevée (70 %).

2.3.4.2. Les sulfamides.

Le triméthoprim + sulfaméthoxazole a une activité nulle sur ces souches , mais néanmoins elle présente une assez faible sensibilité intermédiaire (1.6%) sur *P. aeruginosa*

2.3.4.3. Les amimosides .

Le bacille pyocyanique montre une faible résistance (1.6%) à l'amikacine alors que les autres espèces n'en présentent pas.

PROFIL DE RESITANCE DES SOUCHES DE
 P. FLUORESCENS, P. PUTIDA, P. STUTZERI,
 P. MENDOCINA

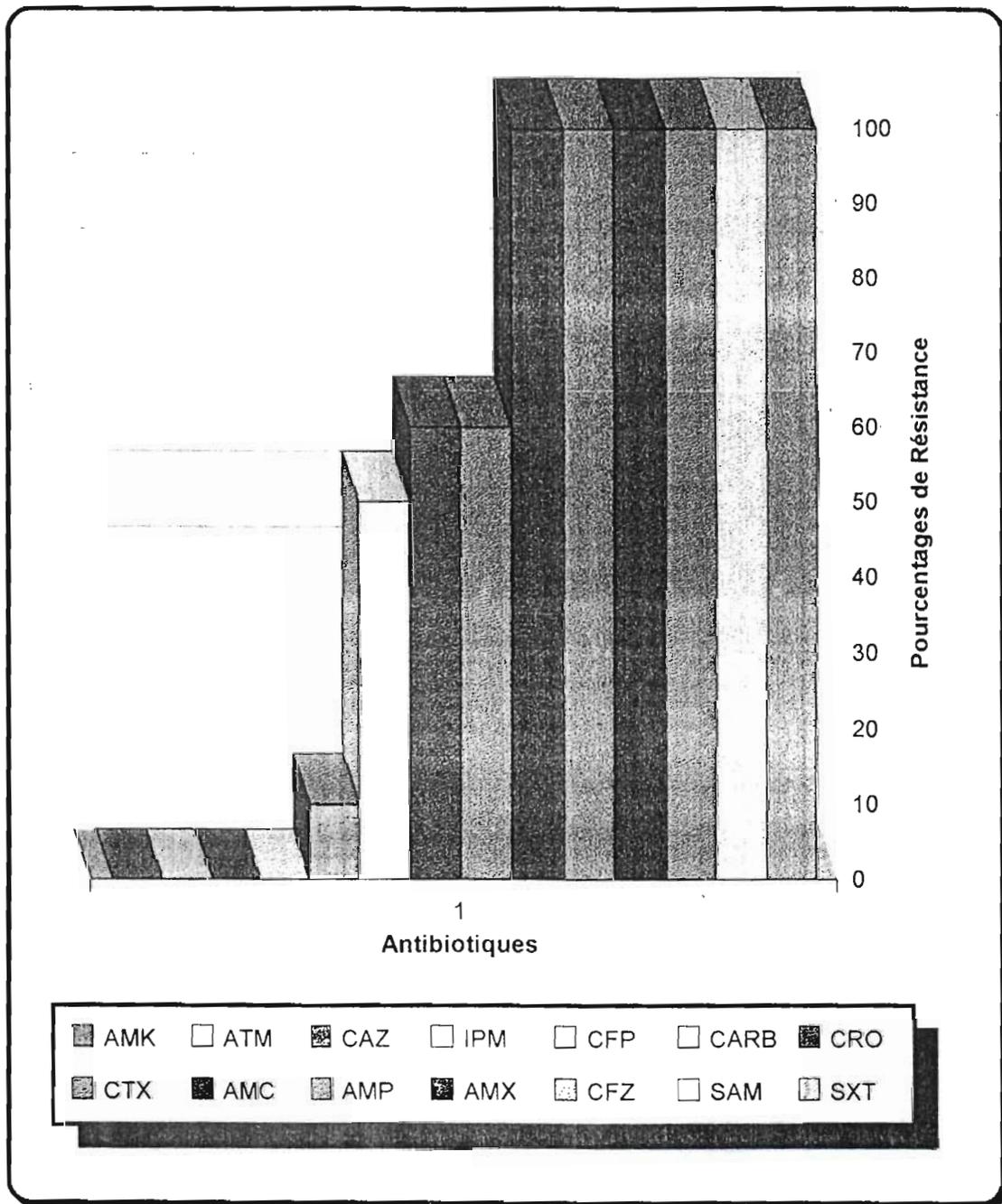


Figure N° 12

2.4. Résultats des CMI.

La sensibilité des souches testées varie en fonction des familles d'antibiotiques mais également à l'intérieur de celles-ci.

2.4.1. Résultats globaux.

Le profil de sensibilité global selon les CMI de sept antibiotiques est regroupé sur le tableau N° 11 (figure 13).

C° (µg/mg) ATB	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
CTX				1	2	2	9	31	61	80	89	90	96
CRO					1	3	13	33	70	88	93	95	96
AMK					2	12	37	72	83	90	92	95	96
CP	53	60	70	74	81	85	90	94	94	95	95	96	96
AMC		1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	7	80
SAM			1	1	1	1	1	1	1	6	8	35	80
ATM						3	28	48	62	69	70	70	80

**TABLEAU N ° 11 : EFFECTIFS CUMULES DES SOUCHES DE
Pseudomonas**

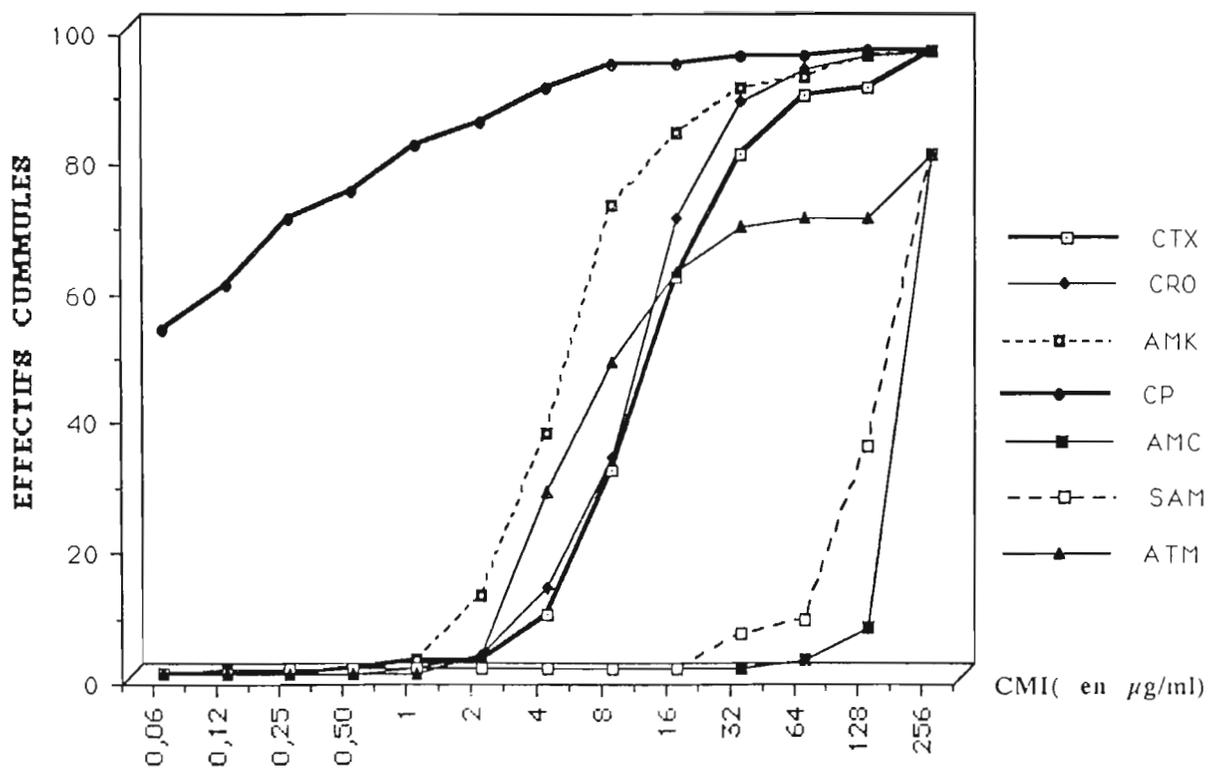


Figure 13: Comparaison des effectifs cumulés des souches de *Pseudomonas* en fonction des CMI des antibiotiques testés

2.4.2. Sensibilité des souches de Pseudomonas en fonction des familles d'antibiotiques.

2.4.2.1. Céphalosporines de troisième génération.

Sur 96 souches de Pseudomonas testées 78 ont un profil de sensibilité intermédiaire à la céfotaxime soit 81.3 %.

85 souches présentent le même profil à la ceftriaxone soit 88.5 %.

Le nombre de souches résistantes est plus élevé pour la céfotaxime (15 souches soit 15,6 %) que pour la ceftriaxone (8 souches soit 8.3 %).

La CMI 50 de la ceftriaxone (7.6 µg/ml) est plus basse que celle de céfotaxime (9.1 µg/ml).

P. aeruginosa a un profil de résistance de 15.9 % à la céfotaxime et 6.1 % à la ceftriaxone.

Les espèces autres que *aeruginosa* présentent le même pourcentage de souches inhibées aussi bien pour la ceftriaxone que pour la céfotaxime. (tableau N° 12, 13, 14)

	VALEURS EXTREMES		CMI 50	CMI 90
	<	>		
CEFOTAXIME	4	>32	9,1	118,4
CEFTRIAZONE	4	>32	7,6	53,6

TABLEAU N ° 12 : VALEURS DES CMI 50 ET CMI 90 (EN µG/ML) DE CEFOTAXIME ET CEFTRIAZONE

PROFIL ESPECES		Concentration < 4		Concentration 4-32		Concentration > 32	
		S		I		R	
		Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
P.aeruginosa n= 82	1	1,2	68	82,9	13	15,9	
P. fluorescens n= 7	0	0	5	71,4	2	28,6	
P. mendocina n= 3	0	0	2	66,6	1	33,4	
P. stutzeri n= 2	1	50	1	50	0	0	
P. putida n= 2	0	0	2	100	0	0	
Total n= 96	2	2,1	78	81,3	16	16,6	

TABLEAU N° 13 : VALEURS DES CMI DE LA CEFOTAXIME.

PROFIL ESPECES		Concentration < 4		Concentration 4-32		Concentration > 32	
		S		I		R	
		Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
P.aeruginosa n= 82	1	1.2	76	92.7	5	6.1	
P. fluorescens n= 7	0	0	5	71.4	2	28.6	
P. mendocina n= 3	0	0	2	66.7	1	33.3	
P. stutzeri n= 2	0	0	2	100	0	0	
P. putida n= 2	2	100	0	0	0	0	
Total n= 96	3	3.2	85	88.5	8	8.3	

TABLEAU N° 14 : VALEURS DES CMI DE LA CEFTRIAXONE

2.4.2.2. Pénicillines et monobactams.

La valeur de la CMI 50 de l'aztréonam (11.1 µg/ml) est plus basse que celle de l'association ampicilline + sulbactam (136 µg/ml) qui elle est inférieure à celle de l'association amoxicilline + acide clavulanique > 256 µ/ml (tableau 15).

	VALEURS EXTREMES		CMI 50	CMI 90
	<	>		
AMPICILLINE + SULBACTAM	4	16	136	> 256
AZTREONAM	4	32	11.1	128
AMOXICILLINE + Ac. clavulanique	4	16	> 256	> 256

TABLEAU N° 15 : VALEURS DES CMI 50 ET CMI 90 EN µg/ml DES DIFFERENTES SOUCHES BETA-LACTAMINES TESTEES.

◇ Association amoxicilline + acide clavulanique (figure 14)

Les résultats globaux montrent une résistance très élevée a cette association (79 souches sur 90 sont résistantes soit 98.7%).

Cette association est totalement inactive sur *P. aeruginosa* (à 100 %) (tableau 16).

PROFIL ESPECES	Concentration < 4		Concentration 4-32		Concentration > 32	
	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
<i>P. aeruginosa</i> n= 69	0	0	0	0	69	100
<i>P. fluorescens</i> n= 7	0	0	0	0	7	100
<i>P. mendocina</i> n= 2	1	50	0	0	1	50
<i>P. stutzeri</i> n= 1	0	0	0	0	1	100
<i>P. putida</i> n= 1	0	0	0	0	1	100
Total n= 80	1	1.3	0	0	79	98.7

TABLEAU N° 16 : VALEURS DES CMI DE L'ASSOCIATION AMOXICILLINE + ACIDE CLAVULANIQUE

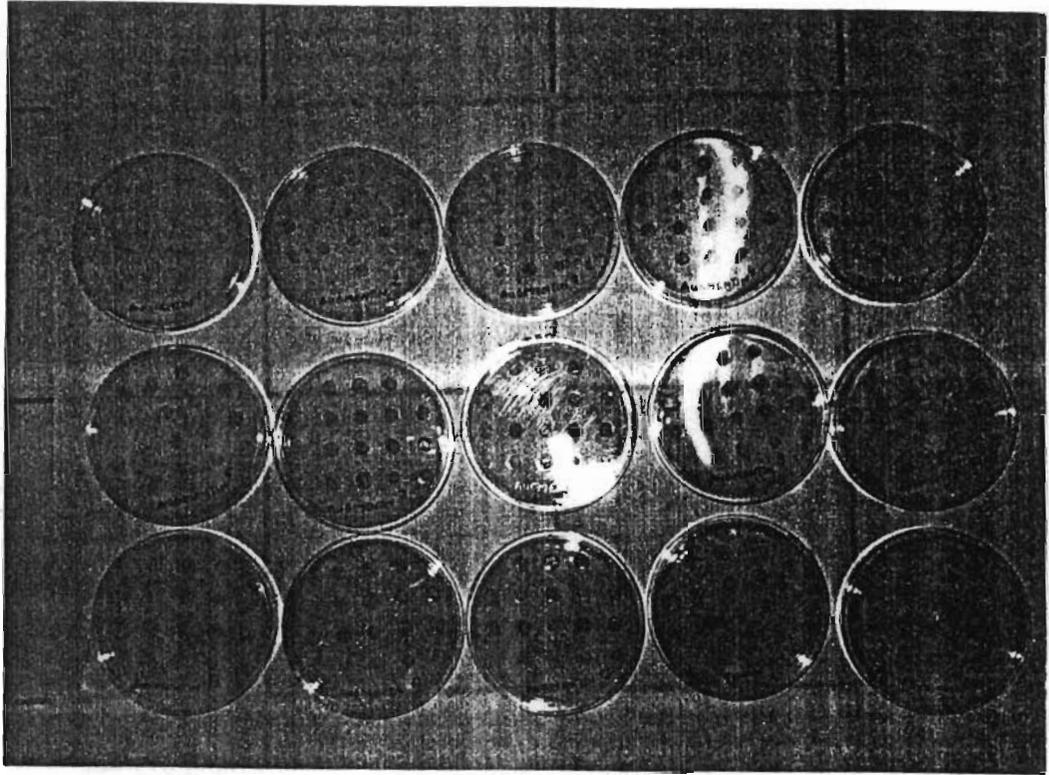


Figure 14: Résultats des CM1 de L'association amoxicilline-acide clavulanique

▪ CMI de l'aztréonam.

- ◇ Les résultats globaux de la CMI de cet antibiotique sur les souches de *Pseudomonas* montrent une résistance modérée : 11 souches sur 80 ne sont pas inhibées (13.8 %) mais aussi une grande sensibilité intermédiaire : 62 souches sur 80 (82,4 %).
- ◇ L' aztréonam a une faible activité sur *P.aeruginosa* (4,3 %) et est inactive sur les autres espèces (tableau N° 17).

PROFIL ESPECES		Concentration < 4		Concentration 4-32		Concentration > 32	
		S		I		R	
		Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
<i>P.aeruginosa</i> n= 69	3	4.3	56	81.2	10	14.5	
<i>P. fluorescens</i> n= 7	0	0	7	100	0	0	
<i>P. mendocina</i> n= 2	0	0	1	50	1	50	
<i>P. stutzeri</i> n= 1	0	0	1	100	0	0	
<i>P. putida</i> n= 1	0	0	1	100	0	0	
Total n= 80	3	3.8	66	82.4	11	13.8	

TABLEAU N° 17 : VALEURS DES CMI DE L'AZTREONAM.

▪ CMI de l'association ampicilline + sulbactam (tableau 18)

- ◇ Cette association présente dans l'ensemble une faible activité sur les souches de *Pseudomonas*, 79 souches sur 80 (soit 98.8 %) sont résistantes.
- ◇ La sensibilité des souches de *P.aeruginosa* est nulle à 100 % de même que pour celles de *P. fluorescens*, *P. putida* et *P.stutzeri*, sauf pour les souches de *P. mendocina* qui ne sont inhibées qu'à 50 %.

ESPECES	PROFIL	Concentration < 4		Concentration 4-32		Concentration > 32	
		S		I		R	
		Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
<i>P.aeruginosa</i>	n= 69	0	0	0	0	69	100
<i>P. fluorescens</i>	n= 7	0	0	0	0	7	100
<i>P. mendocina</i>	n= 2	1	50	0	0	1	50
<i>P. stutzeri</i>	n= 1	0	0	0	0	1	100
<i>P. putida</i>	n= 1	0	0	0	0	1	100
Total	n= 80	1	1.2	0	0	79	98.8

TABLEAU N° 18 : VALEURS DES CMI DE L' ASSOCIATION AMPICILLINE + SULBACTAM.

2.4.2.3. Les aminosides

L'amikacine a une CMI 50 relativement basse 4.5 µg/ml (tableau N° 19).

	VALEURS EXTREMES		CMI 50	CMI 90
	<	>		
AMIKACINE	8	16	4.5	53.3

TABLEAU N° 19 : VALEURS DES CMI 50 ET CMI 90 EN µg/ml de AMIKACINE

▪ CMI de l'amikacine (tableau N° 20)

Sur 96 souches testées 13 seulement sont résistantes (13,6 %), 37 sont sensibles (38.5 %) et le reste, 46 souches, ont une sensibilité intermédiaire (47.9 %).

Sur les souches de *P. aeruginosa* l'amikacine présente une activité notable avec 37.8 % des souches sensibles , mais le profil intermédiaire est élevé.

Aucune résistance n'est observée pour *stutzeri* et *putida*.

PROFIL ESPECES	Concentration < 4 µg/ml		Concentration 4-32		Concentration > 32	
	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
<i>P. aeruginosa</i> n= 82	31	37.8	41	50	10	12.2
<i>P. fluorescens</i> n= 7	1	14.3	4	57.1	2	28.6
<i>P. mendocina</i> n= 3	1	33.3	1	33.3	1	33.3
<i>P. stutzeri</i> n= 2	2	100	0	0	0	0
<i>P. putida</i> n= 2	2	100	0	0	0	0
Total n= 96	37	38.5	46	47.9	13	13.6

TABLEAU N° 20 : VALEURS DES CMI DE L'AMIKACINE

2.4.2.4. Les quinolones.

La ciprofloxacine a une valeur de CMI 50 très basse inférieure à 0.06 µg/ml, même sa CMI 90 est faible 2.3 µg/ml (tableau N° 21).

	VALEURS EXTREMES		CMI 50	CMI 90
	<	>		
AMIKACINE	1	2	< 0.06	2.3

TABLEAU N° 21 : VALEURS DES CMI 50 ET CMI 90 EN µg/ml DE LA CIPROFLOXACINE

▪ CMI de la ciprofloxacine

Sur 96 souches testées 74 sont sensibles (77 %) à une CMI inférieure à 1 µg/ml , 11 intermédiaires (11.5 %) et 11 résistantes à une CMI supérieure à 2 µg/ml (tableau N°22).

PROFIL ESPECES	Concentration < 4 µg/ml		Concentration 4-32		Concentration > 32	
	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
<i>P.aeruginosa</i> n= 82	64	78.1	11	13.4	7	8.5
<i>P. fluorescens</i> n= 7	3	42.9	0	0	4	57.1
<i>P. mendocina</i> n= 3	3	100	0	0	0	0
<i>P. stutzeri</i> n= 2	2	100	0	0	0	0
<i>P. putida</i> n= 2	2	100	0	0	0	0
Total n= 96	74	77	11	11.5	11	11.5

TABLEAU N° 22 : VALEURS DES CMI DE LA CIPROFLOXACINE.

2.5. Etude comparée des CMI et des antibiogrammes.

2.5.1. Les bêta-lactamines

2.5.1.1. Les pénicillines.

◇ L'association amoxicilline + acide clavulanique:

Les résultats de l'antibiogramme sont comparables à ceux de la CMI de cette association .

L'antibiogramme donne une absence totale d'inhibition de culture (résistance à 100%) et la CMI 50 est très élevée supérieure à 256 µg/ml.

◇ L'association ampicilline + sulbactam

L'activité de cette antibiotique sur les souches de Pseudomonas est nulle par la technique d'antibiogramme (100 % de résistance). C'est ce qui est observée à la CMI de cette association.

◇ aztréonam.

Les résultats de l'aztréonam selon les deux méthodes montrent une différence assez significative.

Par la méthode de l'antibiogramme, nous avons une assez bonne activité avec l'aztréonam (77,4 %) sur le bacille pyocyanique alors que la CMI ne montre qu'une faible sensibilité (inférieure à 4 µ/ml).

2.5.1.2. Les céphalosporines.

◇ La céfotaxime a un pouvoir antipyocyanique sensiblement égal selon les deux méthodes : 1,6 % de souches inhibées en antibiogramme et 1,2 % de souches inhibées à une CMI inférieure à 4 µg/ml

◇ La ceftriaxone agit avec 4,8 % de souches inhibées en antibiogramme contre 1,2 % correspondant à une CMI inférieure à 4 µg/ml.

2.5.2. Les aminosides.

◇ L'amikacine testée a une plus grande activité en antibiogramme (98,4 %) que par la méthode des CMI (37,8 %) (CMI inférieure à 4 µg/ml) sur le bacille pyocyanique.

2.6. Résultats de la recherche de bêta-lactamases.

2.6.1. Résultats globaux.

Le taux élevé de résistance des *Pseudomonas* aux antibiotiques justifie la recherche de bêta-lactamases.

La méthode céfinase utilisée révèle que parmi 73 souches testées, les 71 ont une bêta-lactamase soit 97,3 %.

2.6.2. Répartition des bêta Lactamases en fonction des espèces.

Selon le tableau N°23, la résistance à haut niveau de *Pseudomonas* toutes espèces confondues est presque totalement due à la production de bêta-lactamases (97.3 %).

ESPECES	CEFINASE POSITIVE		CEFINASE NEGATIVE	
	Nbre	%	Nbre	%
P.aeruginosa n= 63	61	96.8	2	3.2
P. fluorescens n= 7	7	100	0	0
P. mendocina n= 2	1	100	0	0
P. stutzeri	NT	NT	NT	NT
P. putida n= 1	1	100	0	0
Total n= 73	71	97.3	2	2.7

TABLEAU N° 23 : REPARTITION DES BETA-LACTAMASES EN FONCTION DES ESPECES

2.7. Résultats de la sérotypie.

2.7.1. Fréquence des différents sérotypes obtenus.

Nous avons obtenu 14 sérotypes différents.

- Leur pourcentage sont regroupés sur le tableau N° 24.

Ainsi le sérotype O:11 est de loin le plus fréquent (16 souches) ensuite viennent les sérotypes

- O: 3 (12 souches) ,
- O: 6 (9 souches),
- O: 4 (8 souches),
- O: 12 (6 souches),
- O: 1,(5 souches)
- O: 5, "
- O: 10, "
- O: 13 (5 souches), les autres sont rares.

SEROTYPES	NOMBRE	POURCENTAGE
0 : 1	5	6.1
0 : 2	1	1.2
0 : 3	12	14.6
0 : 4	8	9.8
0 : 5	5	6.1
0 : 6	9	10.9
0 : 7	2	2.4
0 : 8	4	4.9
0 : 9	3	3.7
0 : 10	5	6.1
0 : 11	16	19.5
0 : 12	6	7.3
0 : 13	5	6.1
0 : 15	1	1.2

**TABLEAU N°24 : FREQUENCE DES DIFFERENTS SEROTYPES
OBTENUS**

2.7.2. Etude comparée de la sensibilité des antibiotiques en fonction de la sérotypie (tableau N° 25)

2.7.2.1. Les bêta-lactamines

2.7.2.1.1. Les pénicillines.

Les 14 types de sérotypes trouvés sont tous résistants à 100 % à l'amoxicilline , à l'ampicilline, à l'amoxicilline + acide clavulanique et à l'ampicilline + sulbactam.

Les sérotypes O:1, O:2, O:3, O:7, O:8, O:9, O:10 et O:13 présentent une très grande susceptibilité à la carbénicilline avec une résistance nulle. Les sérotypes O:13 (12,5 % de résistance, O:11 (13,3 %) et O:6 (16,7 %) présentent une résistance modérée. Seul le sérotype O:4 est très inhibé par la carbénicilline.

2.7.2.1.2. Les carbapénems.

L'imipénem est efficace à 100 % sur tous les sérotypes trouvés sauf O:4 où il y a 16,7 % de souches non inhibées.

2.7.2.1.3. Les céphalosporines.

✧ La céfazoline est totalement inactive sur tous les sérotypes trouvés.

✧ La céfotaxime est active à 100 % sur les sérotypes O:2, O:3, O:4, O:8, O:12 et O:13 par contre certains lui sont résistants : O:1, O:7 et O:9 (50 %); O:10 (40 %) , O:5 et O:11 (33,3 %) et enfin O:6 (16,6 %).

✧ La ceftriaxone inhibe à 100 % les sérotypes O:12, O:4, O:6, O:12 et O:13.

Les taux de résistance observés sont parfois élevés:

O:1 (75 %), O:10 (60 %), O:11 (53,3 %), O:7 et O:9 (50 %), O:5 (33,3 %), O:3 (25 %) et O:8 (3,3 %).

✧ La ceftazidime a un très large spectre d'action avec une inhibition à 100 % de tous les sérotypes testés.

✧ La céfopérazone.

La majorité des sérotypes est sensible à cet antibiotique, sauf trois qui sont : O:4 (66,7 %), O:12 (33,4 %) et O:3 (12,5%).

2.7.2.1.4. les monobactams.

Tous les sérotypes testés à l'aztréonam ont une résistance nulle sauf le sérotype O:11 (6,7 %) et O:6 (16,7 %).

2.7.2.2. Les sulfamides.

L'association triméthopime + sulfométhoxazole est inefficace à 100 % sur tous les sérotypes testés.

2.7.2.3. Les aminosides.

L'amikacine a un pouvoir antibactérien puissant sur le bacille pyocyanique, tous les sérotypes sont inhibés à 100 %.

SEROTYPES ATB	01	02	03	04	05	06	07	08	09	010	011	012	013
AMC	4	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
AMX	4	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
SAM	4	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
AMP	4	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
ATM	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
CTX	2	0	0	0	1	1	1	0	1	2	5	0	0
CRO	3	0	2	0	1	0	1	1	1	3	8	0	0
CAZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CFP	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0
CFZ	4	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
SXT	3	1	8	6	3	6	2	3	2	5	15	3	4
AMK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CAB	0	0	1	4	0	1	0	0	0	0	2	1	0
IPM	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU N° 25 : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES EN FONCTION DE LA SEROTYPIE

2.7.3. Répartition des bêta-lactamases en fonction des sérotypes

Tous les sérotypes testés présentent une résistance aux antibiotiques par la sécrétion de bêta-lactamase. Seul un faible pourcentage est céfinase négative, ce sont les sérotypes O:12 avec (33,3 %) et O:11 avec (6,6 %).

SEROTYPES	CEFINASE POSITIVE		CEFINASE NEGATIVE	
	Nbre	%	Nbre	%
0 : 1 n=14	4	100	0	0
0 : 2 n=1	1	100	0	0
0 : 3 n=8	8	100	0	0
0 : 4 n=6	6	100	0	0
0 : 5 n=3	3	100	0	0
0 : 6 n=7	7	100	0	0
0 : 7 n=2	2	100	0	0
0 : 8 n=3	3	100	0	0
0 : 9 n=2	2	100	0	0
0 : 10 n=5	5	100	0	0
0 : 11 n=15	14	93.3	1	6.6
0 : 12 n=3	2	66.7	1	33.3
0 : 13 n=4	4	100	0	0
0 : 15 n=1	NT	NT	NT	NT

TABLEAU N°26 : SEROTYPAGE EN FONCTION DE LA CEFINASE.

2.8. Résultats de la biotypie par la recherche de l'ONPG

2.8.1. Résultats globaux.

La recherche de l'ONPG est faite sur 82 souches de *Pseudomonas aeruginosa* parmi lesquelles 20 seulement contiennent une bêta- Galactosidase soit 24,3 %.

2.8.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques en fonction des deux types de biotype (tableau N° 27,28)

2.8.2.1. Les bêta-lactamines.

2.8.2.1.1. Les pénicillines.

Les souches qui ont un biotype ONPG positif ne sont pas inhibées par l'amoxicilline, l'ampicilline et les associations amoxicilline + acide clavulanique et ampicilline + sulbactam de même que celles qui ont un biotype ONPG négative.

La carbénicilline est plus active sur les souches à biotype ONPG positive que sur celles à biotype ONPG négative (88.8 % contre 70,5 %).

2.8.2.1.2. Les carbapénems.

L'imipenem inhibe fortement les souches à biotype ONPG positive (100 %) et celle à biotype ONPG négative (95,5 %).

2.8.2.1.3. Les céphalosporines.

- ✧ Céfotaxime : son activité est faible sur les souches à biotype ONPG négative (2,3 %) et nulle sur celles à biotype ONPG positive (0 %).
- ✧ La ceftriaxone : elle montre une efficacité moindre sur les souches à biotype ONPG négative 6,8 % et n'agit pas sur celles à biotype ONPG positive.
- ✧ La ceftazidime: elle neutralise à 100 % les souches à biotype ONPG négative mais à un moindre degré (88,6 %) sur les souches à biotype ONPG positive.
- ✧ Le céfopérazone a presque le même spectre d'activité sur les souches à biotype ONPG positive que négative.
- ✧ La céfazoline a une activité nulle sur les deux types de biotypes.

2.8.2.1.4. Les monobactams.

L'action de l'aztréonam est identique vis à vis des souches à biotype positive et négative respectivement 77,8 % et 77,3 % sont sensibles.

2.8.2.2. Les sulfamides.

Le triméthoprime + sulfométhoxazole est inactif sur les deux types de biotypes.

2.8.2.3. Les aminosides.

- ✧ L'amikacine est efficace à 100 % sur les souches à biotype ONPG positive et à 97,7 % sur celles à biotype ONPG négative.

PROFILS	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
ANTIBIOTIQUES						
Amoxicilline + Ac. clavulanique	0	0	0	0	18	100
Amoxicilline	0	0	0	0	18	100
Ampicilline + sulbactam	0	0	0	0	18	100
Ampicilline	0	0	0	0	18	100
Ceftriaxone	0	0	11	61.1	7	38.9
Céfotaxime	0	0	14	77.8	4	22.2
Ceftazidime	18	100	0	0	0	0
Céfopérazone	11	61.1	7	38.9	0	0
Céfazoline	0	0	0	0	18	100
Sulfométhoxazole + Triméthoprime	0	0	0	0	18	100
Amikacine	18	100	0	0	0	0
Carbénicilline	16	88.8	1	5.6	1	5.6
Imipénem	18	100	0	0	0	0
Aztréonam	14	77.8	4	22.2	0	0

TABLEAU N°27 : COMPARAISON DES SOUCHES A BIOTYPE ONPG POSITIVE EN FONCTION DES ANTIBIOTIQUES

ANTIBIOTIQUES	S		I		R	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Amoxicilline + Ac. clavulanique	0	0	0	0	44	100
Amoxicilline	0	0	0	0	44	100
Ampicilline + sulbactam	0	0	0	0	44	100
Ampicilline	0	0	0	0	44	100
Ceftriaxone	3	6.8	28	63.6	13	29.6
Céfotaxime	1	2.3	34	77.3	9	20.4
Ceftazidime	39	88.6	5	11.4	0	0
Céfopérazone	28	63.6	10	22.7	6	13.7
Céfazoline	0	0	0	0	44	100
Sulfométhoxazole + Triméthoprime	0	0	1	2.3	43	97.7
Amikacine	43	97.7	0	0	1	2.3
Carbénicilline	31	70.5	5	11.4	8	18.1
Imipénem	42	95.4	1	2.3	1	2.3
Aztréonam	34	77.3	8	18.2	2	4.5

TABLEAU N°28 : COMPARAISON DES SOUCHES A BIOTYPE NEGATIF EN FONCTION DES ANTIBIOTIQUES

2.8.3. Etude comparée entre céfinase et biotypie.

Tous biotypes confondus : ONPG positive et négative sont céfinase positive, avec seulement deux souches de biotype ONPG positive qui sont céfinase négative soit (11.1 %) (tableau N° 29).

ONPG	CEFINASE POSITIVE		CEFINASE NEGATIVE	
	Nbre	%	Nbre	%
POSITIVE	16	88.9	2	11.1
NEGATIVE	45	100	0	0

TABLEAU N° 29 : REPARTITION DE LA CEFINASE EN FONCTION DE LA BIOTYPIC.

2.9. Etude comparative entre sérotypie et biotypie.

Tous les sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* ont un biotype ONPG négative à l'exception de trois sérotypes chez qui nous avons trouvé un biotype ONPG positive. C'est le cas des sérotypes O:11 (87,5 %) , O:12 (50 %) et O:6 (33,4 %)(tableau N° 30).

SEROTYPES		CEFINASE POSITIVE		CEFINASE NEGATIVE	
		Nbre	%	Nbre	%
0:1	n=5	0	0	5	100
0:2	n=1	0	0	1	100
0:3	n=12	0	0	12	100
0:4	n=8	0	0	8	100
0:5	n=5	0	0	5	100
0:6	n=9	3	33.4	6	66.6
0:7	n=2	0	0	2	100
0:8	n=4	0	0	4	100
0:9	n=3	0	0	3	100
0:10	n=5	0	0	5	100
0:11	n=16	14	87.5	2	12.5
0:12	n=6	3	50	3	50
0:13	n=5	0	0	5	100
0:15	n=1	0	0	1	100
<i>P. aeruginosa</i>	N=82	20	24.5	62	75.5

TABLEAU N° 30 : REPARTITION DE LA BIOTYPIC EN FONCTION DE LA SEROTYPIC

2.10. Principaux phénotypes obtenus (tableau N° 31)

ANTIBIOTIQUES ESPECES	Ampi	Carb	Caz	Cfp	Ipm	PHENOTYPES
P. aeruginosa	R	S	S	S	S	Sensible
P. aeruginosa	R	R	S	S	S	RESITANT OXA-1
P. aeruginosa	R	R	I	R	I	Oxacillinase plasmidique et Céphalosporinase déréprimée
P. mendocina	R	R	S	R	S	TRES RESISTANT PSE-1 ou CARB-2

- 37 souches de P. aeruginosa sont phénotype sensible
- 1 souche de P. aeruginosa à phénotype résistant type OXA-1
- 1 souche de P. aeruginosa à phénotype résistant type pénicillinase plasmidique ou céphalosporinase d'espèce déréprimée
- 1 souche de P. mendocina à phénotype très résistant type PSE-1 ou CARB-2

TABLEAU N°31 : PRINCIPAUX PHENOTYPES OBTENUS

DISCUSSION

CHAPITRE III : DISCUSSION

L'isolement, l'identification complète jusqu'à l'espèce, le sérotype et le biotype, l'étude de la sensibilité par les techniques de dilution et de diffusion définissent les objectifs majeurs de ce travail.

La majorité des souches a été isolée à l'hôpital Aristide LE DANTEC (94,8 %), cadre de l'étude et surtout chez les malades hospitalisés. Le reste est isolé à l'hôpital d'enfants Albert ROYER (2,1 %) ; Institut PASTEUR (3,1 %).

3.1. Fréquence des souches

3.1.1. Fréquence des espèces selon les produits pathologiques

3.1.1.1. Dans les urines

La majeure partie des souches de *Pseudomonas* est isolée des urines (55,2 %) alors que dans l'étude de **DIAHA** (16), l'origine urinaire vient en deuxième position après les pus. Nous observons ainsi une inversion de la répartition avec une prévalence des infections urinaires à *Pseudomonas*.

Dans les urines, l'espèce *aeruginosa* est la plus représentée avec 42 souches/53 soit 79,2 %, puis vient *P. fluorescens* avec 7 souches/53 soit 13,2 %, *P. mendocina* avec 2 souches/53 soit 3,8 %, *P. putida* et *P. stutzeri* 1 souche/53 soit 1,9 %.

3.1.1.2. Dans les pus

Nous avons regroupé ici les différentes sortes de pus : otite, conjonctivite, abcès.

Ces pus sont la deuxième origine après les urines. Les souches de *Pseudomonas* sont souvent isolées des pus d'abcès ouverts parfois en association avec *Staphylococcus aureus*. Elles ne font partie ni de la flore normale de l'oreille, ni de l'oeil, ni de la peau.

Nous avons une prévalence de l'origine auriculaire avec 17 souches/29 soit 58,6 %, ensuite viennent les pus d'abcès 11/29 soit 37,9 % et plus rares sont les origines oculaires 1/29 soit 3,4 %.

La rareté de l'origine oculaire est liée aux facteurs impliqués dans l'infection oculaire. En effet, des études faites par **MAYO M. S.** (32) ont démontré que la présence de *Pseudomonas* dans l'oeil ne résulte pas nécessairement d'une infection. Elle peut être secondaire à un traumatisme ou au port de lentilles de contact.

3.1.1.3. Dans le sang

L'origine sanguine vient en troisième position mais elle est toujours secondaire à une infection primaire à *Pseudomonas* qui constitue une porte d'entrée (otite, plaie infectée) ou une intervention chirurgicale.

Nous avons isolé 5 souches de *Pseudomonas* par hémoculture soit (5,2 %).

Seule l'espèce *aeruginosa* a été isolée du sang.

3.1.1.4. Dans les prélèvements divers

Pseudomonas est aussi isolé à partir d'autres produits pathologiques.

C'est ainsi qu'on isole :

- ✧ des prélèvements urétraux : 4 souches/96 soit 4,2 % constituées uniquement de *P. aeruginosa*;
- ✧ du sperme : 3 souches/96 soit 3,1 % constituée de 2 souches de *P. aeruginosa* (66,6 %) et d'une souche de *P. stutzeri* (33,3 %),
- ✧ du liquide articulaire : 1 souche constituée par *P. aeruginosa*;
- ✧ du liquide céphalo-rachidien : 1 souche constituée par *P. aeruginosa*.

3.1.2. Fréquence des sérotypes en fonction des produits pathologiques (tableau N° 32)

3.1.2.1. Dans les urines

Les sérotypes les plus fréquents obtenus dans les urines sont par ordre décroissant : O:11 (23,8 %) et O:4, O:12, O:6 (11,9%).

Les autres sérotypes varient de 1 à 4 %.

Nos résultats obtenus sont comparables à ceux de **VICAS P.** (64) qui isola des urines, les sérotypes O:4, O:12, O:11, O:6 et O:5.

En 1986 (10), à Dakar le sérotype O:11 était le plus fréquent.

En 1989 (16), à Dakar le sérotype O:11 était en troisième position après O:1 et O:6

Dans les autres CHU, le O:11 prédomine à Bordeaux (1).

Par conséquent, nos résultats sont confirmés par les recherches qui convergent toutes vers la prévalence du sérotype O:11 dans les urines.

3.1.2.2. Dans les pus

A Dakar, selon notre étude, les sérotypes les plus fréquents sont par ordre décroissant : O:13 (30 %) dans les pus d'abcès, O:5 (25 %) dans les pus d'otites, et O:11 (20 %) dans les pus de plaies infectées, O:10 (12,5 %) dans les pus de conjonctivite.

A Dakar, en 1989, (16), le sérotype O:11 était le plus fréquemment rencontré et il en était de même en 1986 (10).

Dans les autres CHU, O:3 et O:6 dominent à Poitiers (15); O:2, O:1, O:3 à Bordeaux (1) ; O:5, O:11 à Montpellier (13) et enfin O:2 et O:11 à Abidjan (66).

En Amérique, selon **MAYO** (32) O:6 et O:12 sont les plus isolés dans les conjonctivites dues aux lentilles de contact.

3.1.2.3. Dans le sang

A Dakar, les sérotypes O:4, O:6, O:11, O:3, O:8 ont été retrouvés dans notre étude.

En 1989 (16), les sérotypes O:11 et O:4 étaient prédominants.

A Abidjan, le sérotype O:4 est le plus fréquent.

3.1.2.4. Dans les prélèvements divers

A Dakar, selon notre étude, seul le sérotype O:4 est représenté dans le liquide céphalo-rachidien ; O:3 et O:13 dans le sperme ; O:3 seul dans les prélèvements uréthraux.

Cette étude comparative montre qu'il n'existe pas de sérotype spécifique d'un produit pathologique donné.

Une répartition des sérotypes suivant les produits pathologiques et les pays est établie au tableau N°32.

Ceci est vrai d'autant plus que **PENCHEVA** (40) précise que sur deux cent souches de *Pseudomonas* isolées dans l'hôpital de Bulgaria et sérotypées, O:2 prédomine (29 %) suivi de O:11 (28,5 %), O:6, O:3, O:10

D'une manière générale le sérotype O:11 reste prédominant depuis quelques années même si on constate l'émergence de nouveaux sérotypes.

Les figures 15 et 16 nous donnent une répartition globale des sérotypes sur deux périodes : 1989 et 1993.

REPARTITION DES SEROTYPES EN 1989

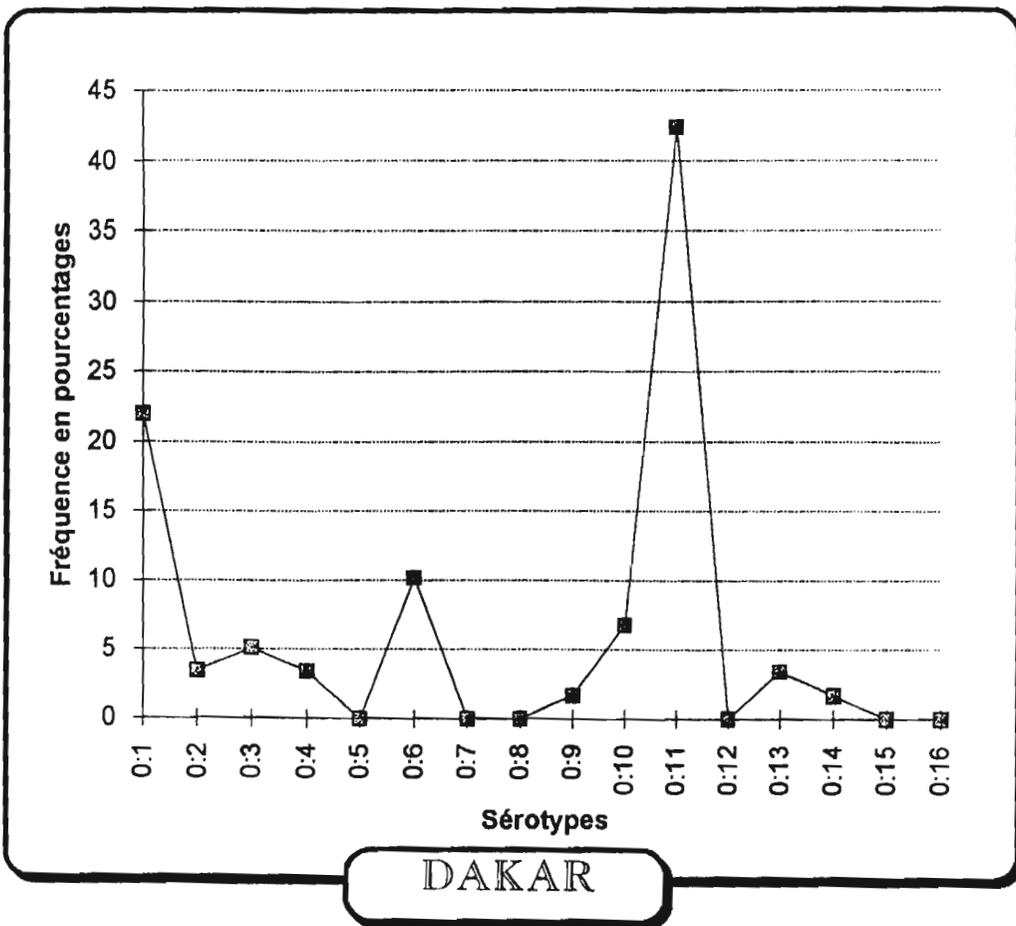
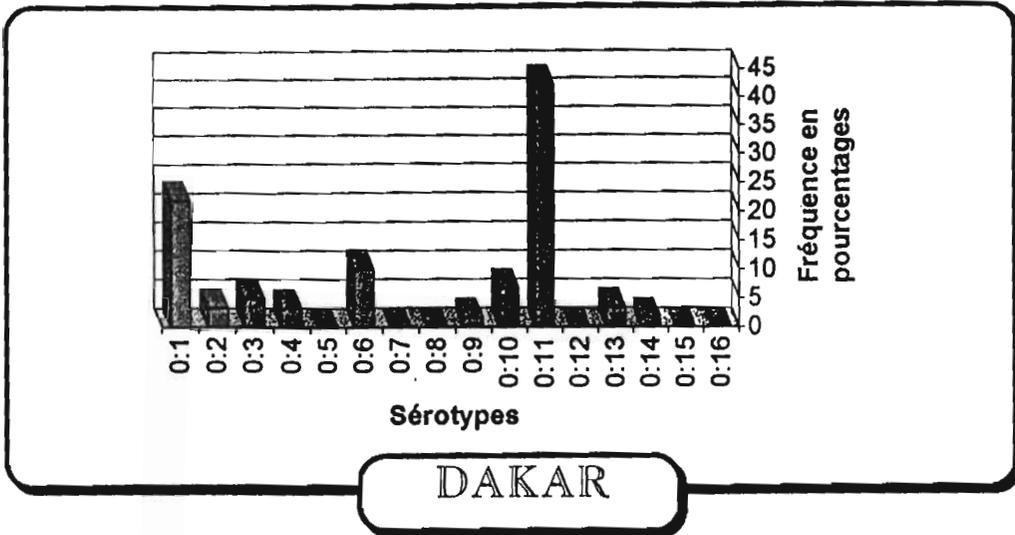


Figure N° 15

REPARTITION DES SEROTYPES EN 1993

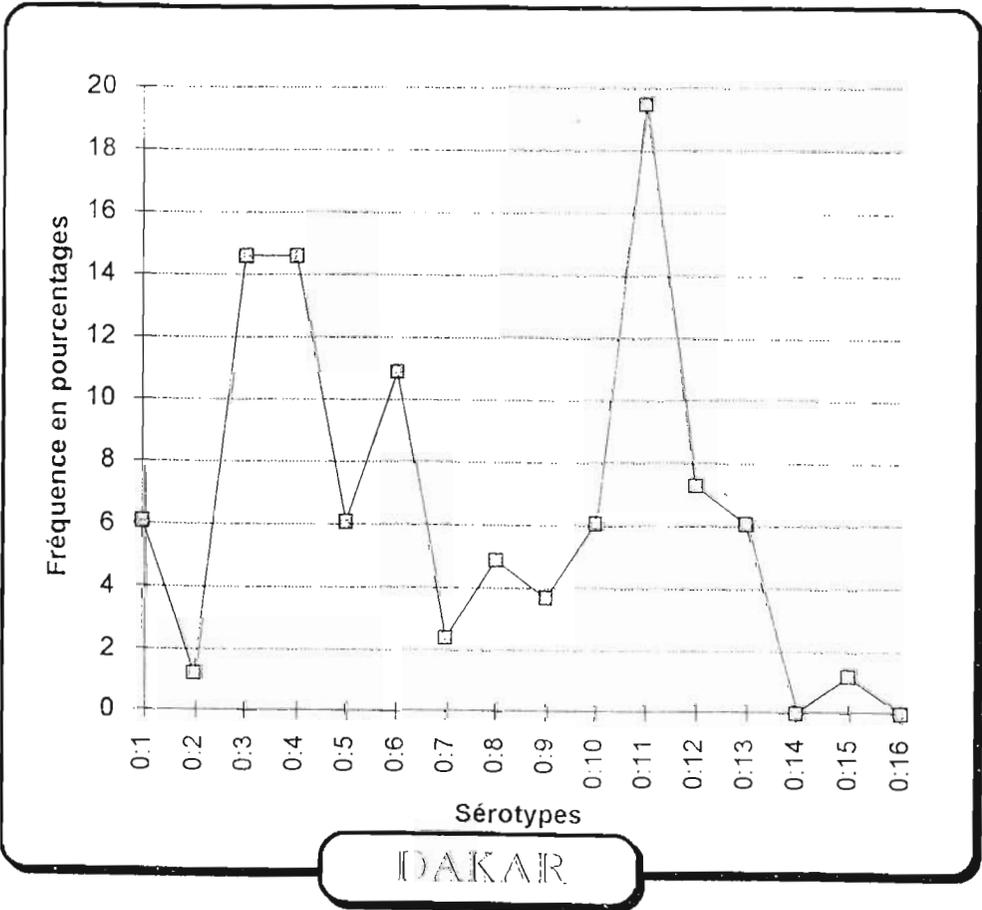
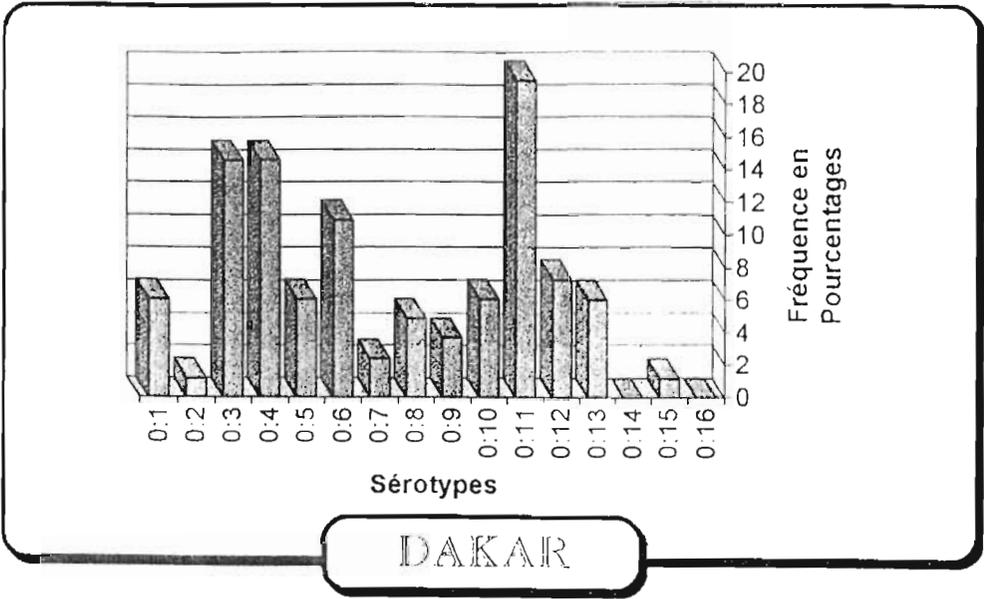


Figure N° 16

Origines Géographiques Origine des prélèvements	ABIDJAN (1986) (66)	MAURITANIE (1987) (62)	DAKAR (1989) (16)	DAKAR (1993) Notre étude
URINES	0:1, 0:3 0:4, 0:6 0:10, 0:11 0:12, 0:16	0:1, 0:3 0:4, 0:5 0:6, 0:8 0:10, 0:11 0:12, 0:13, POLY	0:1, 0:6, 0:11 NAG	0:11, 0:4, 0:3 0:6, 0:12, 0:1, 0:5, 0:10, 0:13, 0:8, 0:9, 0:7, 0:2, 0:15
PUS	0:1, 0:2, 0:3, 0:4, 0:6, 0:8, 0:9, 0:11, 0:12, 0:13, 0:16 ROUGH, NAG	0:1, 0:3, 0:4, 0:5, 0:6, 0:8, 0:9, 0:10, 0:16, ROUGH, NAG	0:11, 0:1, 0:3, 0:4, 0:6, 0:9, 0:10, ROUGH	0:13, 0:5, 0:11, 0:10, 0:1, 0:3, 0:4, 0:6, 0:8, 0:9, 0:12, ROUGH
SANG	0:2, 0:3, 0:4, 0:6, 0:10, 0:11, 0:12, 0:16	0:6, 0:8, 0:11,	0:11, 0:4 0:1, 0:2, 0:13, NAG	0:4, 0:6, 0:11, 0:3, 0:8,

NAG : Non agglutinable

Poly : Polyagglutinable

Rough : autoagglutinable

**TABLEAU N°32 : DISTRIBUTION DES SEROGROUPES O SELON LES
PRODUITS PATHOLOGIQUES ET LES ORIGINES
GEOGRAPHIQUES**

3.1.3. Corrélation biotypie - sérotypie

Dans notre étude, nous avons dénombré 60 souches à biotype ONPG négative (75 %) et 20 souches ONPG positive (25 %)

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont d'une manière générale dépourvues de bêta-galactosidase. Le sérotype O:11 est en forte proportion, biotype ONPG positive (87,5 %).

Donc il existe nécessairement une corrélation sérotype O:11 et biotype ONPG positive. Cette corrélation biotype-sérotype a été déjà observée dans de nombreux pays (61) et notamment au Sénégal (44,45), en Côte d'Ivoire (66) et en Mauritanie (62).

Les sérotypes O:11 quelle que soit leur origine géographique, pathologique, humaine ou animale, sont presque toujours biotype ONPG positive : 296/303 soit 97,7 % (61).

La corrélation est donc significative et cela confirme que l'enzyme est constitutive.

POINDRON et coll. (44), **SHEID** (49), **BOURGUIGNAT** (5) ont précisé la localisation périplasmique de cet enzyme et en ont étudié ces différentes propriétés.

Nous avons trouvé d'autres sérotypes O:6 et O:12 à biotype ONPG positive: 3 souches/82 soit 3,7 %, ce qui n'est pas courant dans la littérature.

Ceci pourrait être l'apparition de nouveaux sérotypes à biotype ONPG positive.

3.2. sensibilité aux antibiotiques

3.2.1. Sensibilité globale

La sensibilité des souches de *Pseudomonas* aux antibiotiques a été étudiée selon 2 méthodes : la méthode de l'antibiogramme moins fiable et la technique des CMI préférée grâce à sa grande sensibilité et sa parfaite reproductibilité. Ceci nous permet de faire une comparaison de la sensibilité de ces souches selon les deux méthodes et par conséquent incriminer des facteurs influençant les résultats.

3.2.1.1. Bêta-lactamines

Nous avons isolé les souches de *Pseudomonas* quotidiennement des produits pathologiques.

Pourtant, après les avoir testés, nous constatons que nous avons des souches très résistantes à la famille des bêta-lactamines surtout à celle des pénicillines (100 %). Ces résultats sont confirmés par la littérature (41, 47), qui dit que *Pseudomonas* est naturellement résistant aux pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés analogues), aux céphalosporines de première génération (céfazoline ...) de deuxième génération, voire de troisième génération (céfotaxime...).

Nous avons trouvé que la carbénicilline a une activité notable sur les souches de *Pseudomonas* (70,8 %).

En effet, elle a été pendant longtemps le produit de choix utilisé contre les infections à *Pseudomonas*. C'est ce qui ressort de nombreux travaux en particulier de ceux de **BODEY et coll.**(4) et ceux de **CERVANTES VEGA C.** (9) qui trouva seulement 7 % de souches résistantes.

Les céphalosporines de troisième génération testées dans ce travail sont subdivisées en 2 groupes : la céfotaxime et la ceftriaxone qui ont une activité modérée sur les souches de *Pseudomonas* et la céfopérazone et la ceftazidime qui occupent une place de choix dans le traitement des infections à *Pseudomonas*.

Ces antibiotiques sont communément utilisés en Europe pour le traitement des infections graves à *Pseudomonas*.

Le classement de ces céphalosporines de troisième génération selon leurs activités respectives observées dans notre étude est le suivant :

La ceftazidime avec une grande activité (91,7 %), suivi de la céfopérazone (58,4 %), la ceftriaxone (4,2 %) et le céfotaxime en dernier (1,4 %).

De nombreuses études comparatives ont été faites sur les céphalosporines de 3^e génération.

CLUZEL et coll (11) ont travaillé sur des bactéries hospitalières selon la méthode des CMI et l'antibiogramme et ils ont trouvé que la ceftriaxone est plus active sur *Pseudomonas* que la céfotaxime mais inférieure aux céphalosporines antitypocyaniques : la céfopérazone et la ceftazidime.

NASNAS et coll (37) ont fait une étude comparative de l'activité de la ceftriaxone et de la céfotaxime sur les souches de *Pseudomonas* AMPI -R et CARBENI-R et ont trouvé que les souches étaient moyennement sensibles aux deux antibiotiques testés.

DEFORGES L. et coll. ont testé 8 céphalosporines de troisième génération et parmi ces céphalosporines, il y a celles que nous avons testées dans notre étude : la céfotaxime, la ceftriaxone, la céfopérazone, la ceftazidime.

Leurs résultats montrent que ces quatre antibiotiques ont des activités proches avec deux particularités : la céfopérazone se distingue de la céfotaxime et de la ceftriaxone par son activité antitypocyanique élevée; et la ceftazidime a de loin, la meilleure activité sur *Pseudomonas*.

Ces différents travaux énumérés : **CLUZEL, NASNAS et DEFORGES** valident l'essai de classement de l'activité des céphalosporines de troisième génération que nous avons fait en nous basant sur nos résultats.

L'aztréonam une nouvelle monobactam (38) que nous avons testé sur les souches de *Pseudomonas* a une CMI 50 de 11,1 µg/ml mais elle a une grande activité est intermédiaire (82,4 %).

Ce même antibiotique testé en antibiogramme nous donne une grande activité (70,8 %).

Cette différence qui s'observe sur les mêmes souches avec deux méthodes différentes met en cause de nombreux facteurs qui interviennent dans la méthodologie.

THORNSBERRY (55, 57) a expliqué ce type de discordance dans une étude où il a recherché les facteurs pouvant influencer les deux tests :

- la densité de l'inoculum
- le temps et la température d'incubation
- le pH
- l'atmosphère
- la stabilité de l'antibiotique à tester surtout si on doit opérer par la méthode de dilution: cas des CMI.

Ces variables ont fait l'objet de confusion dans le passé.

Il conclut de ses investigations que la méthode de diffusion en gélose est normalement fait dans un but essentiellement qualitatif. Cette méthode est acceptée par la FDA et la NCCLS (57). Toujours selon lui la méthode de dilution est quantitative, elle est proposée par la NCCLS et évite certains aspects observés dans les méthodes de diffusion.

Par conséquent, cet auteur en déduit que la méthode des CMI est plus fiable que celle de l'antibiogramme, elle n'est pas utilisée en pratique courante, et elle pourra donc aider le biologiste à bien interpréter ses résultats et le clinicien à mener à bien son traitement.

L'imipénem testé par antibiogramme sur nos souches montre une puissante activité antipseudomonacique (97,2 %) supérieure à celle de la ceftazidime (91,7 %).

STANNEEK JL (52) étudia l'activité de l'imipénem par la méthode des CMI sur une souche de référence : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et trouva que cet antibiotique a une forte activité.

Origines Géographiques ABT	COTE D'IVOIRE * n=210	MAURITANIE* n=175	NIGER* n=23	ILES CANARIES * n=94	DAKAR 1989 n=78	DAKAR* Notre étude n=96
CARB	49.2	48.2	13.0	23.4	41.2	19.4
AMK	7.0	15.4	0	1	2.5	1.4
CFP	NT	NT	NT	NT	NT	9.7
CFZ	41.1	22.8	13.0	22.8	37.1	26.4
CAZ	NT	5.5	0	1.0	NT	0
SOUCHES	173	133	17	32	67	41

✧ Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport au nombre total de souches de chaque pays.

TABLEAU N° 33 : ANTIBIORESISTANCE DE SOUCHES DES *Pseudomonas aeruginosa* SELON DIFFERENTS PAYS(63)

Avec seulement 4 % de souches résistantes ayant une CMI supérieure ou égale à 16 µg/ml malgré que l'on ait utilisé deux méthodes différentes , antibiogramme en ce qui concerne notre étude et CMI par **STANNEEK** (52), nos résultats sont concordants et montrent une activité nette de l'imipénem .

3.2.1.2. Les aminosides.

L'amikacine est la seule représentante de cette famille que nous avons testée sur nos souches et elle nous a donné des résultats satisfaisants aussi bien par la méthode de l'antibiogramme (98,6 %) que par la détermination des CMI 50 (4,5 µg/ml).

Nous n'avons pas testé les autres aminosides mais des enquêtes menées en France (41) ont montré que l'incidence de la résistance de *Pseudomonas* aux aminosides varie :

gentamicine 18 %, tobramicine 16 %, amikacine 3 % alors que notre étude montre une résistance de 1,4 % par la méthode de l'antibiogramme . En Afrique, nous constatons que la résistance à l'amikacine varie dans un intervalle assez bas de 0 à 15,4 % voir tableau N° 33.

L'amikacine est l'antibiotique le plus actif des aminosides . Elle agit sur 98,6 % de nos souches . Ce résultat est superposable à celui de **CISS K.** (10) , celui de **PRINCE DAVID et coll.** (16) (100 %), celui de **BRIAND et coll.** (16) (80 %) et enfin celui de **SOUSSY** (16) (93,1 %) d'activité.

L'amikacine constitue donc l'espoir avec seulement 1,4 % de résistance : cela pourrait s'expliquer par le fait que cet antibiotique n'est pas couramment utilisé dans nos centres hospitaliers du fait de son coût élevé.

L'activité de tous ces antibiotiques (58) sur *P. aeruginosa* a été étudiée par **FUJITA JIRO** (18) et **VURMAN RAPP** (65)

Ils trouvèrent que l'amikacine était le plus actif de tous, ensuite viennent par ordre décroissant de sensibilité l'imipénem, la ceftazidime et l'aztréonam. La ciprofloxacine et la céfopérazone n'ont pas fait partie de leur étude.

3.2.2. Etude comparée de la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* et de *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. mendocina*, *P. stutzeri*

Nos résultats seront comparés à ceux de **PHILLIPON** (41) qui a fait une étude comparative des différentes espèces de *Pseudomonas*.

3.2.2.1. Bêta-lactamines

- ✧ les pénicillines (ampicilline, amoxicilline), la céfazoline testée sur nos souches montrent une activité nulle, ce qui veut dire que la résistance naturelle aux aminopénicillines et dérivés, aux céphalosporines de première génération évoquée par **PHILLIPON A.** (41) ne s'arrête pas qu'au bacille pyocyanique mais concerne le genre *Pseudomonas*.
En effet, **PHILLIPON A.** (41) a comparé ses résultats avec d'autres (40) faits sur *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. mendocina* et conclut que sur l'ensemble des espèces la modeste activité des bêta-lactamines est caractéristique.
- ✧ la carbénicilline est plus active sur *P. aeruginosa* que sur les autres espèces.
- ✧ Nous avons obtenu pour les céphalosporines de 3ème génération testées, une sensibilité meilleure pour *P. aeruginosa* que pour les autres espèces. C'est le cas des travaux de **PHILLIPON** (41) qui trouve que la ceftazidime a une bonne activité sur les espèces mais cependant inférieure à celle trouvée pour *P. aeruginosa*.
- ✧ l'imipénem a une très bonne activité sur *P. aeruginosa* (96,8 %) mais meilleure sur les autres espèces (100 %). **PHILLIPON** (41), lui trouve aussi une remarquable activité sur toutes les espèces exceptée sur *P. maltophilia* qui est naturellement résistante à cet antibiotique (29, 52).

3.2.2.2. Les aminosides

L'amikacine est particulièrement active sur nos souches, 100 % pour *P. putida* et *P. stutzeri* et 98,8 % pour *P. aeruginosa*. Cependant elle présente une activité moindre pour *P. fluorescens* (28,6 %) et *P. mendocina* (33,3 %). **PHILLIPON** (41) qui a étudié la sensibilité comparée des différentes espèces de *Pseudomonas* a trouvé une sensibilité comparable à première vue des souches de *Pseudomonas* aux aminosides avec des phénotypes de résistance aux aminosides pour *P. fluorescens* et *P. putida*.

3.2.2.3. Les quinolones (23,28,48)

La ciprofloxacine testée en CMI sur nos souches avec une CMI 50 < 0,06 µg/ml et une sensibilité globale de 77,1 %. *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. mendocina* sont sensibles à 100 %. Seuls *P. aeruginosa* (8,5 %) et *P. fluorescens* (57,2 %) présentent une résistance. **PHILLIPON** (41) lui trouve une bonne activité globale et une résistance assez élevée pour *P. maltophilia* et *P. cepacia*.

3.2.2.4. Les sulfamides

Nous avons trouvé une résistance à 100 % de nos souches au triméthoprime + sulfaméthoxazole avec une faible sensibilité intermédiaire pour *P. aeruginosa* PHILLIPON (41) en testant cette association en a conclu que les souches de *Pseudomonas* ont une résistance naturelle au triméthoprime mais que le sulfamide qui lui est associé pouvait être actif.

3.2.3. Corrélation entre sérotypie et sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques des différents sérotypes obtenus dans notre travail est variable selon les antibiotiques et selon les sérotypes. Les sérotypes ont à peu près le même profil de sensibilité selon les familles mais il existe des cas particuliers comme le sérotype O:4 qui résiste à un taux assez élevé (16,7 %) à l'imipénem qui est un antipyocyanique de choix.

Les sérotypes O:11 (6,7 %) et O:6 (16,7 %) résistent à l'aztréonam.

Pour la ceftriaxone, O:1 est particulièrement résistante (75 %) alors que O:8 ne l'est presque pas (3,3 %). Ceci amène à penser à une corrélation entre résistance aux antibiotiques et sérotypes.

Le mécanisme de résistance aux antibiotiques ne serait pas le même selon les sérotypes. C'est ainsi que **LIVEMORE** (30) démontra dans d'autres études qu'il existe une corrélation entre sérotype O:16 et PSE-4 (=Pseudomonas spécifique enzym). De la même façon **BENEDETTINI** (2) trouva une corrélation significative entre sensibilité aux antibiotiques et certains sérotypes particuliers : un pourcentage élevé de souches non agglutinables, le sérotype O:2 et O:6 présentèrent une résistance élevée aux antibiotiques testés.

3.3. Corrélation entre résistance aux antibiotiques et bêta-lactamases

Du fait de la résistance élevée des *Pseudomonas* aux bêta-lactamines (principalement aux pénicillines) nous avons fait la recherche de bêta-lactamases, enzymes responsables de la résistance par hydrolyse, des bêta-lactamines.

La recherche a été faite par 2 méthodes principalement :

✧ la recherche de bêta-lactamase à spectre élargi utilisant comme inhibiteur l'acide clavulanique et le sulbactam .

Par cette méthode, aucune bêta-lactamase n'a été détectée sur nos souches.

✧ la recherche de bêta-lactamase à spectre étroit par la méthode de la céfinase nous a donné un pourcentage élevé de souches productrices de bêta-lactamases (71 souches)

soit 97,3 %). En effet, de nombreuses investigations ont été faites pour connaître le support de cette résistance.

C'est ainsi que **PAULL** (39) a isolé des souches de *Pseudomonas* résistantes à la ceftriaxone chez des malades atteints de fibrose kystique.

En étudiant la sensibilité de ces souches, il a trouvé que la CMI des souches isolées avant traitement était de 0,78 à 12,5 µg/ml et après traitement, leur CMI devenait 50-100 µg/ml. Il en conclue que la résistance s'est développée lors du traitement (**SANDERS et SANDERS** (in 39) 1983 l'avait démontré).

Cette résistance est due à une bêta-lactamase de haut niveau déterminé par l'inhibition du substrat et le point isoélectrique (**RICHMOND et SYKES** 1973).

D'autres auteurs tels que **PHILLIPON** (41) ont essayé d'expliquer dans leurs travaux le mécanisme d'action de cette résistance et en ont déduit que *Pseudomonas* résiste aux bêta-lactamines par trois mécanismes différents.

✧ le premier lié à une mauvaise diffusion des bêta-lactamines à travers la paroi bactérienne. On parle de résistance par imperméabilité qui est soit naturelle pour les pénicillines M, soit acquise (68).

✧ le deuxième mécanisme fait intervenir l'inactivation enzymatique. Il y a biosynthèse d'une bêta-lactamase chromosomique habituellement déréprimée (céphalosporinase inductible).

Cet enzyme agit en hydrolysant l'antibiotique parvenu au niveau de l'espace périplasmique.

✧ le dernier mécanisme est moins bien exploré et la modification de la cible de l'antibiotique (PLP = protéine de liaison de la pénicilline) (68).

D'autres recherches encore plus poussées furent menées par **PHILIPPON** (43) pour une étude plus détaillée du mécanisme de résistance enzymatique. Ainsi, il trouva différentes types de bêta-lactamases :

- PSE = *Pseudomonas* specific enzym (PSE-1 et PSE-4 = carbénicillinase ou CARB.2)
- OXA = hydrolysant fortement l'oxacilline (OXA-1, OXA-2, OXA-3, OXA-5, OXA-6, OXA-7).
- TEM = Temoniera enzyme
- Céphalosporinase chromosomique déréprimée

Récemment, de nouvelles découvertes ont été faites par **MEIDEROS** (33). En effet, il a extrait des souches de *Pseudomonas* carbeni-R, un plasmide codant pour une nouvelle bêta-lactamase TLE-1 qui ressemble à TEM-1 et des enzymes de type OXA-4, OXA-5, OXA-6 et OXA-7 hydrolysant fortement l'oxacilline, la méthicilline et la cloxacilline et qui sont différents de OXA-1, OXA-2, OXA-3 par leur profil de substrat et par leur point

isoélectrique. De la même façon PHILIPPON (42) découvrit OXA-4 ressemblant à OXA-1, il se distingue par leur point isoélectrique.

Des travaux récents de **LIVEMORE et coll.** (31) ont permis de caractériser une nouvelle bêta-lactamase NPS-1 codé par un plasmide désigné par pMLH50. Ce plasmide est transmissible à d'autres souches de *P. aeruginosa* mais pas à *Escherichia coli* K-12. Il a été démontré que cet enzyme a une activité sur toutes les pénicillines et céphalosporines.

Dans notre travail, nous n'avons pas étudié les plasmides codant pour les bêta-lactamases mais nous avons observé une grande production de bêta-lactamases par l'ensemble des sérotypes (presque 100 %).

Par contre, nous avons testé comme **WEBER** (67) des inhibiteurs de bêta-lactamases : acide clavulanique et sulbactam (55).

Nous n'avons observé aucune bêta-lactamases à spectre élargi sur les 96 souches testées tandis que **WEBER** (67) confirme que les effets inhibiteurs des inactivateurs d'enzyme peuvent être observés avec l'acide clavulanique à de forte concentration et non avec le sulbactam (7, 54).

Un deuxième auteur **GUTMAN L.** (21) essaie de justifier l'association d'antibiotique bêta-lactamine avec inhibiteur (acide clavulanique ou sulbactam). Il trouva que ces derniers ne sont actifs que sur les bêta-lactamases de type pénicillinase d'origine plasmidique.

Ces derniers travaux comparés aux nôtres permettent de confirmer comme dans la littérature que le genre *Pseudomonas* ne possède pas de bêta-lactamases à spectre élargi. voir tableau n°34

ANTIBIOTIQUES ESPECES	GUTMANN 1989		NOTRE TRAVAIL 1993	
	Ac. clav.	Sulbactam	Ac. clav.	Sulbactam
<i>P. aeruginosa</i>	> 128	> 128	> 256	> 256

TABLEAU N°34 : CMI DES INHIBITEURS SUR L'ESPECE AERUGINOSA (21)

3.4 Phénotypie

Les différents phénotypes obtenus correspondent à ces quatre types que PHILIPPON (41) a décrit :

- ✧ phénotype sensible : on note l'effet inducteur de l'imipénem vis à vis de la ceftazidime et de la céfapérozone (figure 17).
- ✧ phénotype résistant avec présence d'une enzyme de type OXA (oxacillinase) qui inhibe les pénicillines et est inactif sur la céfopérozone et la ceftazidime (figure 18).
- ✧ phénotype très résistant en présence d'enzymes de type PSE-1 (ou CARB-2) qui sont actifs sur les bêta-lactamines à l'exception de la ceftazidime et de l'imipénem qui sont inhibiteurs de pénicillinase (synergie) (figure 19).
- ✧ phénotype résistant vis à vis des bêta-lactamines inactivables mais avec une sensibilité à la ceftazidime diminuée. Il y a présence de 2 enzymes : une oxacillinase plasmidique et une céphalosporinase d'espèce dérégulée (figure 20).

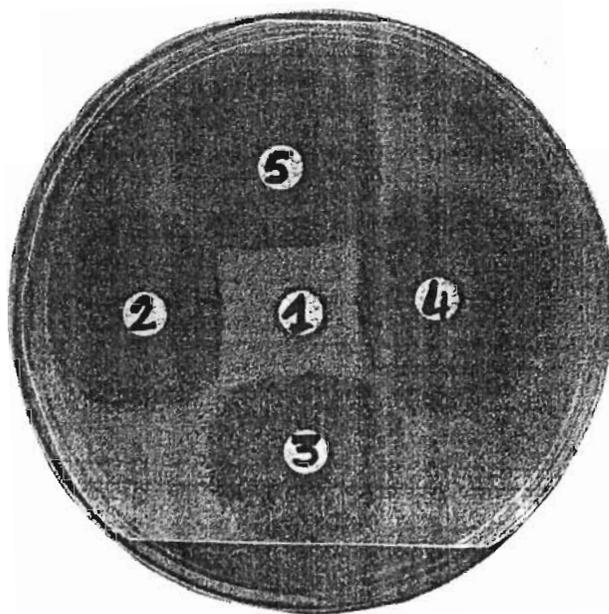


Figure 17: Phénotype sensible

1.AMP: R 2.CARB: S 3. CAZ: S 4.CFP: S 5.IPM: S

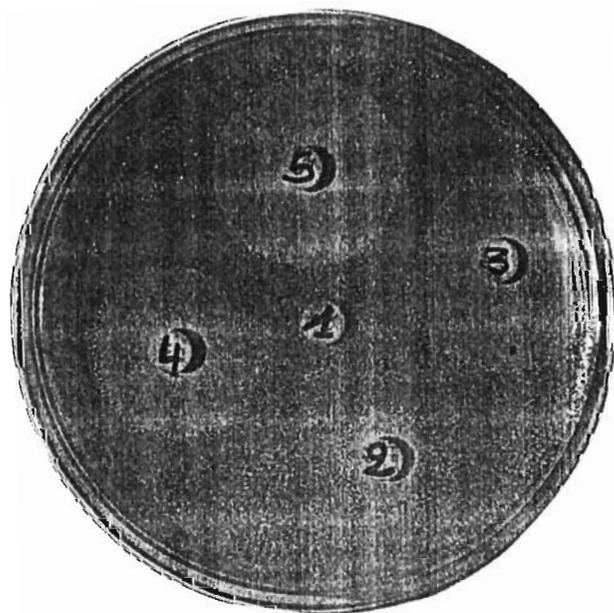


Figure 18: Phénotype résistant (type OXA)

1.AMP: R 2.CARB: R 3. CAZ: S 4.CFP: S 5.IPM: S

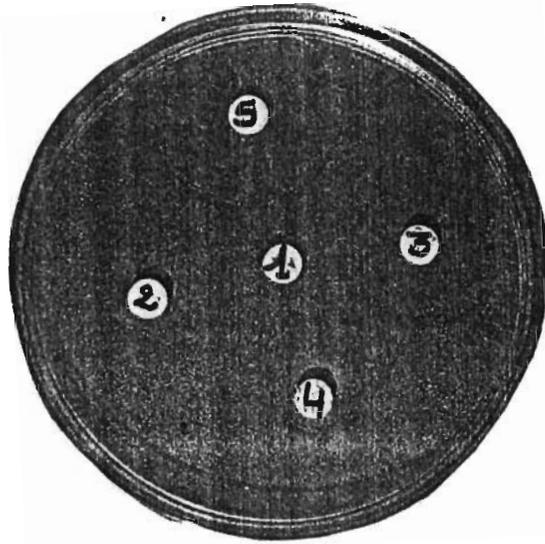


Figure 19: Phénotype très résistant (type PSE-1)

1.AMP: R 2.CARB: R 3.CAZ: S 4.CFP: R 5.IPM: S

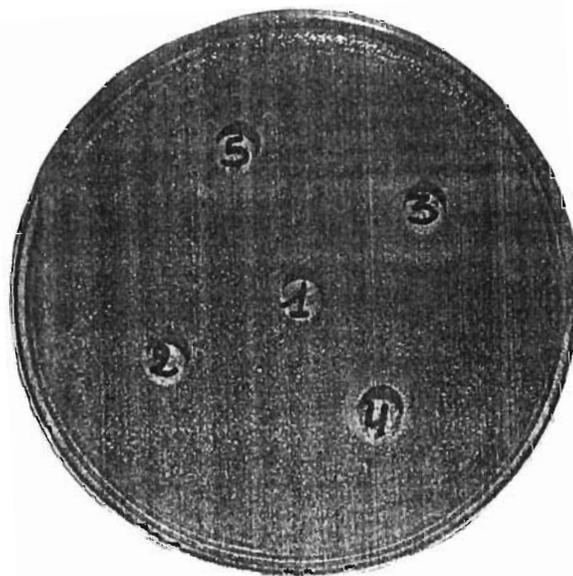


Figure 20: Phénotype résistant (oxacillinase plasmidique et céphalosporinase dérégulée)

1.AMP: R 2.CARB: R 3.CAZ: I 4.CFP: R 5.IPM: I

CONCLUSION

TROISIEME PARTIE : C O N C L U S I O N

L'espèce *P. aeruginosa* conserve une place de choix en pathologie humaine, étant responsable de la plupart des infections hospitalières aussi pour les autres espèces de *Pseudomonas*.

Nos travaux ont porté sur 96 souches collectées dans diverses structures hospitalières et ont duré une année (1992/1993), dont la grande majorité a été isolée à l'hôpital Aristide LE DANTEC (98,8 %) cadre de l'étude.

D'autres espèces plus rares ont été isolées de divers prélèvements et sont aussi incriminées en pathologie humaine, ce sont : *P. fluorescens*, *P. mendocina*, *P. putida* et *P. stutzeri*.

Les souches de *Pseudomonas* trouvées se distribuent différemment selon les produits pathologiques : urines 55,2 %, pus de conjonctivite 17,7 %, pus d'abcès 11,5 %, sang 5,2 %, pus uréthral 4,2 %, sperme 3,1 %, liquides articulaires, pus de conjonctivite, liquide céphalorachidien 1 %.

✧ Par ce travail, nous avons contribué :

- d'une part : à rendre compte de la sensibilité " in vitro " des différentes espèces de *Pseudomonas* aux agents antibactériens ;
- d'autre part : à surveiller l'évolution du bacille en milieu hospitalier par l'étude de différents marqueurs épidémiologiques.

✧ Nous avons fait un sérotypage de 82 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de divers prélèvements cités ci-dessus.

De nos résultats de sérogroupage, il ressort que le sérotype O:11 est retrouvé en permanence dans les différents types de prélèvement, à un taux élevé et reste toujours en tête depuis 1973.

Les sérotypes qui viennent juste après le sérotype O:11 sont par ordre décroissant :

- O:3 (14,6 %), O:6 (10,9 %), O:4 (9,7 %)
- O:12 (7,3 %).

D'autres sérotypes sont de fréquence variable : O:1, O:5, O:8, O:10, O:13 et le reste est presque rare, ce sont O:15 et O:2. Aucun sérotype O:4 et O:16 n'a été trouvé.

✧ Sur les souches de *P. aeruginosa*, le biotypage par la recherche d'un caractère biochimique moins variant (ONPG) nous a permis de constater une corrélation significative entre sérotype O:11 et présence d'une bêta-galactosidase. En effet, la majeure partie des sérotypes O:11 est ONPG positive 87,5 %.

Nous avons trouvé deux autres sérotypes O:6 et O:12 qui ont une bêta-galactosidase même après revérification de ce caractère.

Cela pourrait être l'apanage de nouvelles découvertes sur lesquelles plusieurs hypothèses peuvent être posées.

L'une des hypothèses plausibles est la transmission du caractère bêta-galactosidase du sérotype O:11 aux autres sérotypes O:6 et O:12.

Nous avons entrepris l'étude de la sensibilité des souches de Pseudomonas par le biais des CMI à propos de 7 antibiotiques :

- céfotaxime
- ceftriaxone
- amikacine
- ciprofloxacine
- aztréonam
- amoxicilline + acide clavulanique
- ampicilline + sulbactam

et des antibiogrammes à propos de 14 antibiotiques :

- ampicilline
- amoxicilline
- ampicilline + sulbactam
- amoxicilline + acide clavulanique
- carbénicilline
- aztréonam
- imipénem
- céfazoline
- céfotaxime
- céfopérazone
- ceftazidime
- amikacine
- sulfaméthoxazole + triméthoprim

L'étude du comportement in vitro des souches de Pseudomonas montre qu'elles ont une résistance naturelle aux bêta-lactamines surtout aux céphalosporines de 1ère génération et aux pénicillines.

Ces derniers même associés à des inhibiteurs n'ont pas d'effet sur elles. Par conséquent elles n'ont pas de bêta-lactamases à spectre élargi.

La recherche de bêta-lactamases à spectre étroit par la méthode de la céfinase est positive à 97,3 % : ce sont des pénicillinases et des céphalosporinases d'origine chromosomique.

De la recherche de ces bêta-lactamases émergent des sérotypes particulièrement plus résistants : cas des sérotypes O:11, O:3, O:4.

Les antibiotiques antipyocyaniques les plus actifs en milieu hospitalier dakarois sont

▪ l'amikacine	98,6 %	de sensibilité
▪ l'imipénem	97,2 %	" "
▪ la céftazidime	91,7 %	" "
▪ la ciprofloxacine	77,1 %	" "
▪ l'aztréonam	70,8 %	" "
▪ la céfopérazone	58,3 %	" "

Il découle des résultats de cette étude et de ceux de plusieurs autres Scientifiques une situation inquiétante car les antibiotiques qui sont actifs sur les *Pseudomonas* ne sont non seulement pas disponibles dans nos hôpitaux, mais aussi leur coût très élevé limite leur utilisation.

Avec nos résultats nous pouvons à présent mieux cerner la prévention et la surveillance des infections à *Pseudomonas*.

En effet, la prévention de l'infection à *Pseudomonas* à Dakar doit principalement passer :

- ◇ d'une part, par l'application rigoureuse des mesures d'hygiène en milieu hospitalier car, le germe est presque exclusivement de contamination hospitalière ;
- ◇ d'autre part, par la mise en place d'une politique de rationalisation de la prescription de ces antibiotiques en médecine publique afin d'éviter la résistance sans cesse croissante de ces germes isolés en milieu hospitalier.

L'automédication et le non suivi d'un traitement antibiotique entamé ne demeurent pas en reste dans l'apparition de nouveaux profils de résistance aux antibiotiques les plus actifs dans les infections par ce germe.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. **BEBEAR C. et DU LONG DE ROSAY C.**
La sérotypie de *Pseudomonas aeruginosa* : intérêt épidémiologique
Bordeaux Med. 1973, **8** : 1143-1151.

2. **BENEDETTINI G., CARDUCCI A., PIEROTTI R., MORELLI P., AVIO CM.,
CAMPA M.**
Pseudomonas aeruginosa: immunotypes and drug resistance.
C. Bacteriol. Virol. Immunol. 1986, **79** (1-6) : 25-36

3. **BINGEN E.**
Mécanisme d' action des bêta-lactamines , de la structure bactérienne à la structure de la molécule.
Rousel Ed **44** , 1986 : 7-67

4. **BODEY G.P. et TERREL L.M.**
Carbénicilline seule en association dans le traitement des infections chez les malades cancéreux.
Symp. internat. sur le pyopen, Paris, 1976,

5. **BOURGUIGNAT A.**
L'ONPG hydrolase chez *Pseudomonas aeruginosa* sérotype O:11.
Th. Doc . Bioch. Univers. Louis Pasteur, Strasbourg 1977.

6. **BOYE C.S., BARRY A., SANOU I.**
Pseudomonas
Cours de *CES de bactériologie et virologie cliniques*
Faculté de Médecine et de Pharmacie UCAD , 1991.

7. **BUISSON Y., NISOU J.Y., TALARIN A ., MEYRAN M.,**
Spread in hospital unit of a *Pseudomonas aeruginosa* phenotype producing a beta lactamase highly in inductiblely clavulanic acid in vitro
J. Path . Biol. , 1992 , **40** (5) : 566-572.

8. **CASTETS M., VEZARD Y., SAMB A. et MALLET M.**
Sérotypie des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à Dakar.
Bull. Soc. Med . Afr. Noire , 1973, **18** : 447-449.

- 9 CERVANTES V.C., CHAVEZ J., RODRIGUEZ M.G.**
Antibiotic susceptibility of clinical isolated of *Pseudomonas aeruginosa*.
Anton. Van Leeuw , 1986, **52** (4) : 319-324.
- 10 CISS K.**
Le bacille pyocyanique en milieu hospitalier dakarois
Th. Pharm Dakar ,1986 , N° 18.
- 11 CLUZEL M., CHANAL M., SIROT D., SIROT J., CLUZEL R.**
Activité de la céftriaxone in vitro sur des malades hospitalisés .
Path. Biol. 1985, **33** (5bis) : 473-476
- 12 DAWS D. B., DULBECO R., EIDEN H. N. and coll.**
Pseudomonas and other non fermenting bacilli.
Microbiol., 1990, **4** : 595-600
- 13 EBROCK D., DESPAUX E., JEANJEAN M. F. et MANDIN J.**
Etude épidémiologique de *Pseudomonas aeruginosa* dans la région de Montpellier.
Ann. Microbiol. Inst. Pasteur , 1975 , **126 B** : 412.'
- 14 DEFORGES L., LE VAN THOI J., SOUSSY C.I., DUVAL J.**
Activité antibactérienne in vitro de huit céphalosporines de troisième génération
Path . Biol., 1982, **30** (6) : 363-369.
- 15 DENIS F., GADEAU C., GESLIN M. ET NIVET A.**
Intérêt épidémiologique de la sérotypie de *Pseudomonas aeruginosa* en milieu hospitalier.
J. Med . Piotiers , 1973, **4** (4) : 209-213
- 16 DIAHA A. M. C. A.**
Le bacille pyocyanique en milieu hospitalier à Dakar.
Th. Pharm Dakar. 1989, N° 24.
- 17 DIOP I. MAR, SOW A., et SAMB A.,**
Surinfections hospitalières dans une unité de soins intensifs.
Bull. Soc. Med .Afr. Noire, lang. franç , 1972, **27** (3) : 400- 405.
- 18 FUJITA J., NEGAYAMA K., TAKIGAWA K., YAMAGISHI Y., KUBO A., YAMAJI Y. and TAKAHARA J.**
Activity of antibiotics against resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
J. Antimicrob. Chemoter ., 1992, **59** : 539-546

19 GILARDI G.L.

Pseudomonas

M. of Clin. Microbiol., 1985, **4** : 350- 372

20 GUIBERT J.

Infections à bacille pyocyanique

EMC. Mal. infect. , 1982, **11** , 8025 B 50

21 GUTMANN L.

Spectre des inhibiteurs de bêta-lactamases

Med. Mal. Inf. 1989: 52-56.

22 HABS I .

Pseudomonas aeruginosa

Weitschr. Hyg. , 1957 , **144** : 218-228.

23 HALLER I.

Comprehensive evaluation of ciprofloxacin in combination with beta-lactam antibiotics against enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.

Arznei. 1986, **36** (2) : 226 - 229

24 JAWETZE E., MELNIEK J .L., ALDELBERG A.

Pseudomonas , *Acinetobacter*, *Aeromonas* et *Plesiomonas* .

Rev. Med. Microbiol., 1987, **7** : 247-250

25 JOKLIK, WILLET, AMOS IN ZINSSER

Microbiol. 8é Edition E.C.C. Norwalk, 1984,

26 LABONDE J., FESTY B. B.

Bilan de recherche systématique de *P. aeruginosa* dans les eaux de boissons.

Rev. Inst. Pasteur Lyon , 1979 , **12** : 507-512

27 LE MINOR L., VERON M.

Pseudomonadaceae

Bact. Med. 2ème Ed. Paris, 1990 : 375-376

28 LESSE A.J., FREER C., SALATARA, FRANCIS J.B., SCHELD W.M.,

Oral ciprofloxacin therapy for Gram-negative bacillary osteomyelitis.

Am. J. Med. 1987 , **27** , **82** (4A): 247-253

29 LIPMAN B. , NEW H.C.

Imipenem : a new carbapenem antibiotic.

Med. Clin. North Am. 1988, **72** (3) : 567-579

30 LIVEMORE DM. PITT TL, JONES CS, CREES- HARRIS JA, WILLIAMS RJ

PSE-4 Bêta-lactamase : a serotype specific enzym in *Pseudomonas aeruginosa*

J. Antimicrob. Agents and chemother. 1985, **19** (1) 45-53

31 LIVEMORE DM. JONES CS.,

Characterization of NPS -1 , a novel plasmid mediated bêta-lactamase, from two *Pseudomonas aeruginosa* isolates.

J. Antimicrobiol. Agents and chemother. 1986, **29** (1) : 99-103

32 MAYO M.S., COOK W.L., SCHLITZER R.L., WAREL M.A., AHEARM D.G.

Antibiotigrams , serotypes and plasmid profiles of *Pseudomonas aeruginosa* associated with corneal ulcers and contact lens wear.

J. Clin . Microbiol. 1986, **24** (3): 372-376

33 MEDEIROS AA, COHENFORD M., JACOBY G.A.,

Five novel plasmid determined bêta-lactamases

J.Antimicrobiol- Agents and chemother, 1985, **27** (5) : 715:719

34 MBOUP S., PRINCE -DAVID M. ET DENIS F.

Sérotypie et biotypie des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir des diarrhées à Dakar.

Ann. Miocrobiol. Inst. Pasteur , 1980 , **131A** : 39-40.

35 MOATTI N .

Les nouvelles bêta-lactamines .

Med. Mal. Inf. 1987 ; N° **special** : 43-48

36 MONTEIL H. ET RASOAMANANJARA D.

Autres bacilles à Gram négatif et antibiotiques

In *L'antibiogramme*, 1ère Ed., Paris, 1985, **1** : 127-131.

37 NASNAS R., GUTMANN L., KITZIS M.D., GOLDSTEIN F., AGAR J.F.

Etude comparative de l'activité de la ceftriaxone avec le céfotaxime et le moxalactam sur 150 bactéries à Gram négatif.

Path. Biol., 1982, **30** (6) : 341-344

38 NEW HC.

Aztreonam : the first monobactam
Med. Clin. North Am , 1988, **72** : 555-566

39 PAULL A., MORGAN J.R.

Emergence of ceftriaxone resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patient.
J. Antimicrob. chemother. 1986, **18** (5) : 635 : 639

40 PENICHEVA P.

Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in Bulgaria using the lany-Bergan combined scheme.
Acta. Microbiol. hung., 1986 ; **33** (4) : 345-349

41 PHILIPPON A., ANDRE T., NEVOT P.,

Pseudomonas et bêta-lactamines
In *L'antibiogramme* , 1ère Ed., Paris, 1985, **1** : 103-106

42 PHILIPPON A.M. , PAUL GC., JACOBY G.A.

New plasmid mediated oxacillin hydrolyzing bêta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*
J. antimicrob. chemother , 1986 , **17** (4) : 415-422

43 PHILIPPON A.

Les bêta-lactamases
An. Inst. Pasteur, 1982, **92** : 7-11

44 POINDRON P., BOURGUIGNAT A. , LOMBARD Y. et KHOUDY R.

Localisation périplasmique de l'enzyme qui hydrolyse l'ONPG chez *Pseudomonas* , sérotype O:11
Ann. Microbiol. (PARIS), 1975 , **126 B** (3) : 415

45 PRINCE DAVID M. , CHIRON J P. , SAMB A. et DENIS F.

Etude métabolique et antigénique de 430 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à Dakar ; fréquence élevée de sérotypes O:11, biotype bêta-galactosidase positif.
Bull. Soc. Med. Afr. Noire Lang. fr, 1977, **22** (1) : 35-41

46 PRINCE DAVID M., M' BOUP S. et DENIS F.-

Place et caractéristiques des *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir des produits pathologiques dans un laboratoire hospitalier en zone tropicale.
Med. Mal. Inf. , 1983, **13** : 374-377

47 RICHARD C.

Antibiogramme et identification des bacilles à Gram négatif.
In L'antibiogramme, 1ère Ed. Paris, 1985, 1 : 105-112

48 RICHARD C.

Ciprofloxacin a review of its antibacteria activity , pharmacokinetic properties and therapeutic use.
Drugs, 1988, 35 (4) : 373-447

49 SHEID F.

L'ONPG, hydrolase de *Pseudomonas aeruginosa*.
D.E.A Biol. Molec. Univ. L. Pasteur, Strasbourg, 1976

50 SINGLAS E., ARTHAUD A., SULTAN E.

Bacterial resistance, β -lactamase, and unasin
Inf. Microbiol. 1988 , 3 : 11-15

51 STANIER R Y., PALLERONI N J., DOUDORFF N.

The aerobic *Pseudomonas* : A taxonomy study
Microbiol., 1966, 43 : 159-271

52 STANNECK J.L,

imipenem susceptibility testing whith commercially prepared dry-Format microdilution tray.
J. Clin Microbiol., 1986, 23 (6) : 1134-1135

53 STEG A. et ABOULKER P.

Infections urinaires à bacille pyocyanique
Rev. Prat. 1962, 12, 17 : 1929-1930

54 TAUSK F., STRATTON C W.

Effect of clavulanic acid on the activity of ticarcillin against *Pseudomonas aeruginosa*.
Antimicrob. Agents chemother., 1986, 30 (4) 584-589

55 TORNSBERRY C.

Automated procedures for antimicrobiol susceptibility tests.
M. clin. Microbiol. ,1985, 4 : 1015-1018

56 TORNSBERRY C., JONES R. M., BARRY A.L.

Beta-lactamase inhibitors.

Subl. ADV. over Bact. resist. 1986 ; 17-21

57 TORNSBERRY C., and SHERRIS J.C.

Laboratory tests in chemotherapy

Clin. Microbiol. 4ème Ed., 1985 : 959:1021

58 VAN-DER-AUWERA P., HUSSON M., BULLIARD G.

Study in vitro selected resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to cefoperazone, ceftazidime, aztreonam and imipenem

Drugs Exp. Clin. Res , 1986, **12** (11) : 871-883

59 VERON M., LE MINOR L.

Pseudomonadaceae

In *Bacteriologie medicale*, Flammarion, Paris, 1991, 557-598

60 VIEU J.F.

La lysotypie et la pyocynotypie de *Pseudomonas aeruginosa*. Leur rôle dans l'épidémiologie des infections hospitalières.

Bull. Inst. Pasteur, 1969, **67** : 1231-1249

61 VIEU J.F. ET VIEU M.

Le test à l'ONPG et l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa*

Med. Mal. infect. ,1978 , **8** (5) : 231-234

62 VIEU J F., LEPERS J. P., CHANOISEAU G., BILLON C. et KLEIN B.

Epidémiologie de *Pseudomonas* en Mauritanie, étude de 239 souches d'origines diverses.

Bull. Soc. Path. Ex., 1987, **80** : 771-780

63 VIEU J. F., SAMB A., DIAHA ALLOU C., LEPERS J.P., MONZON-MORENO C., PECARRERE J. C. et KLEIN B.

Sensibilité aux antibiotiques de 580 souches hospitalières de *Pseudomonas aeruginosa* isolées en Côte d'Ivoire, Mauritanie, Niger, Sénégal et Iles Canaries.

Med. et Mal. infect., 1989, **19** (5) : 319-321

64 VISCA P., CHIARINI F., MANSINI A., VETRIANI C., SERINO L. AND ORSI N.

Virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* from urinary tract infections.

65 VURMA-RAPP V., KAYER F. H., BARBERIS N., L.

Antibacteria properties of imipenem with special reference to the activity against methicillin-resistant staphylococci, cefotaxime-resistant, enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.

J. Antimicrob., Chemother., 1986 : 27-33.

66 WAOTA N.

L'infection hospitalière à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Cocody dans le service de gynécologie-obstétrique.

Thèse Médecine, Abidjan, 1986, n°716.

67 WEBER D. A., SANDERS C.C.

Diverses potential of beta-lactamase inhibitors to induce class I enzymes.

J. Antimicrobiol., Ag. and Chemother., 1990 **34** (1) : 156-158.

68 WILLIAMSON COLLATZ E., GUTMANN L.

Mécanisme d'action des bêta-lactamines et mécanisme de résistance non enzymatique.

Press. Med., 1986 , **15** (46) : 2282-2295.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

