

# FACTEURS DE VIRULENCE ET EPIDEMIOLOGIE LIES AU PSEUDOMONAS AERUGINOSA

## VIRULENCE FACTORS AND EPIDEMIOLOGY RELATED TO PSEUDOMONAS AERUGINOSA

S. Bricha, K. Ounine, S. Oulkheir,  
N. E. EL Haloui, B. Attarassi

Laboratoire de Biologie et Santé, Equipe de Microbiologie Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, Kénitra- Maroc.

### Correspondance :

Saïd Oulkheir  
Oulkheir\_said@yahoo.fr

### Résumé :

*Pseudomonas aeruginosa* constitue une part importante de la flore psychrotrophe. Ce microorganisme est capable de se proliférer dans plusieurs environnements tels que l'eau et le sol. Grâce à son métabolisme très versatile, il lui est possible d'utiliser une grande variété de composés, incluant des déchets toxiques et plusieurs sources de carbone et de nitrate comme accepteur d'électrons. De plus, sa grande capacité d'adaptation à un environnement hostile ainsi que ses nombreux facteurs de virulence lui permettent de prendre avantage de certaines situations particulières pour infecter plusieurs types d'hôtes tels que les végétaux, les insectes et les animaux. *P. aeruginosa* peut être impliqué dans les toxi-infections d'origine alimentaire. Elle est très pathogène pour les sujets fragilisés ou immunodéprimés, causant un taux élevé de morbidité et de mortalité. Ainsi, *P. aeruginosa* peut être retrouvée dans les infections cutanées dont les atteintes les plus graves concernant les grands brûlés.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa*, facteurs de virulence, Adaptation, Infections.

### Abstract:

*Pseudomonas aeruginosa* is an important part of the psychrotrophic flora. This organism is able to proliferate in various environments such as water and soil. With its extremely versatile metabolism, it is possible to use a large variety of compounds, including toxic waste and multiple sources of carbon and nitrate as electron acceptor. In addition, its great capacity to adapt to a hostile environment and its many virulence factors allow it to take advantage of certain situations to infect several types of hosts such as plants, insects and animals. *P. aeruginosa* may be involved in the poisoning of food. It is highly pathogenic to immunocompromised subjects or weakened, causing a high rate of morbidity and mortality. Thus, *P. aeruginosa* can be found in skin infections in which the most serious attacks on large burned.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*, Virulence factors, Adaptation, Infections.

## I- INTRODUCTION

Les infections causées par *P. aeruginosa* illustrent bien sa capacité d'adaptation à plusieurs niches écologiques. Il est, entre autres, la cause d'infections de la peau chez le mouton [1], d'infections placentaires chez le cheval (infections transmissibles sexuellement) [2], d'infections chroniques des glandes mammaires chez les bovins [3], de pneumonies hémorragiques chez le vison [4], et d'otites externes chez le chien [5]. Chez l'humain, Ce pathogène est aussi la cause de dermatites, de méningites, d'infections de la peau chez les grands brûlés, de septicémies, d'otites externes, d'endocardites chez des patients abusant de drogues intraveineuses et d'infections nosocomiales du tractus urinaire [6, 7].

Ainsi, *P. aeruginosa* peut être retrouvée dans les infections cutanées dont les atteintes les plus graves concernant les grandes brûlées. En effet, l'altération de la barrière physique que constitue la peau, ainsi que la diminution locale de la réponse immune humorale entraînent une colonisation rapide de la peau par *P. aeruginosa*, pouvant conduire à des septicémies responsables d'une mortalité élevée. Cette bactérie est également responsable d'infections ophtalmologiques, urinaires, ORL, ostéo-articulaires, neuro-méningées et digestives.

La pathogénie de *P. aeruginosa* est attribuée à la production de nombreux facteurs de virulence membranaires et extracellulaires. Les facteurs membranaires incluent le flagelle, le facteur d'adhésion (pili de type IV) et l'alginate, tandis que les facteurs extracellulaires sont principalement les exotoxines, les exoprotéases, la phospholipase C et les chromophores [8]. La capacité de *P. aeruginosa* à former un biofilm protecteur et à sécréter dans son environnement des enzymes toxiques et hydrolytiques, telles que diverses exoprotéases (élastase, staphylolysine, alcaline protéase, protéase IV), est largement associée à sa virulence.

Cette revue bibliographique a pour objectif d'étudier:

- Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa*,
- La régulation de l'expression des facteurs de virulence,
- Epidémiologie liée à *P. aeruginosa*,
- L'antibiothérapie contre *P. aeruginosa*,

## II. FACTEURS DE VIRULENCE DE P. AERUGINOSA

*P. aeruginosa* synthétise de nombreux facteurs de virulence, qui lui permettent de survivre aussi bien dans les différents hôtes que dans l'environnement [9]. Ces facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent ainsi à *P. aeruginosa* de coloniser son hôte. Ils comprennent notamment des facteurs impliqués dans l'adhérence et la motilité de *P. aeruginosa* qui permettent la colonisation de l'hôte. Les adhésines bactériennes sont typiquement des structures macromoléculaires assemblées à la surface bactérienne comme le flagelle, les pili de type IV, les fimbriae et les alginate. Le LPS intervient également dans l'adhésion de *P. aeruginosa* sur l'épithélium respiratoire [10, 11].

Des toxines et des protéases qui provoquent des lésions tissulaires facilitant aussi la multiplication et la dissémination bactérienne dans les tissus de l'hôte: L'exotoxine A, l'élastase, les phospholipases C, les rhamnolipides et les exoenzymes sécrétées par le système de sécrétion de type III.

### II. 1. Facteurs impliqués dans l'adhérence et la motilité de P. aeruginosa

L'adhérence des bactéries à la cellule eucaryote cible ou à la surface tissulaire est un phénomène spécifique, qui requiert la participation de deux facteurs: un récepteur eucaryote et une adhésine bactérienne. Les récepteurs sont généralement des glucides ou des résidus peptidiques spécifiques de la cellule eucaryote.

#### II. 1. 1. Le flagelle

Le flagelle est essentiel pour assurer la mobilité de la bactérie, facilite l'acquisition de nutriment et joue vraisemblablement un rôle indirect dans l'adhésion cellulaire. Son importance dans la pathogénèse semble établie puisque des souches non flagellées sont sévèrement atténuées dans leur virulence. Feldman et al. [12], montrent que des bactéries mutantes, sans flagelles, étaient moins invasives que la souche mobile.

Selon O'Toole et Kolter [13], le flagelle joue un rôle important dans les stades précoces du développement du biofilm bactérien in vitro. Il est également impliqué dans l'adhérence aux cellules épithéliales respiratoires [12].

#### II. 1. 2. Les pili de type IV

L'évènement initial dans l'infection de la bactérie de type rugueux aux cellules épithéliales des muqueuses grâce aux pili de type IV, qui de plus favorisent la phagocytose [9]. Les micro-organismes incapables d'adhérer aux muqueuses perdent donc la capacité d'établir une infection. Ces pili de type IV, qui sont rétractables sont aussi impliqués dans un mécanisme de déplacement particulier, indépendant du flagelle, appelé « twitching motility » qui prédomine dans les mouvements à l'interface de surfaces solides [14]. En outre, les souches piliées provoquent non seulement plus de pneumonies mais sont aussi à l'origine d'une plus grande mortalité que les souches ne possédant pas le pili.

#### II. 1. 3. Facteur d'attachement de type fimbriae (ou Cup)

Chez *P. aeruginosa*, ces facteurs d'attachement sont essentiels pour l'adhérence aux surfaces abiotiques, comme le verre et le plastique, mais également dans la formation du biofilm [15].

#### II. 1. 4. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS, localisé dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif, est d'une part connu pour son rôle protecteur contre la lyse provoquée par le sérum et d'autre part pour son activité endotoxique. Il est également impliqué dans la stimulation de la réponse inflammatoire et dans les interactions avec les tissus hôtes. L'endotoxine est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort [16].

#### II. 2. Facteurs impliqués dans la colonisation de l'hôte

##### II. 2. 1. Les exotoxines

La production d'exotoxines est induite par un contact cellule bactérienne/cellule eucaryote et par un milieu environnant pauvre en Ca<sup>2+</sup>. ExoS et ExoT sont responsables des réarrangements du cytosquelette et de l'arrondissement des cellules eucaryotes in vitro [17]. Il a été démontré que ExoS n'était pas nécessaire à l'initiation de l'infection, mais à la destruction des tissus au site d'inflammation et à la dissémination bactérienne [18]. En fait, lorsque introduite dans la cellule eucaryote, cette protéine détruit les filaments d'actine induisant une cytotoxicité et une résistance à la phagocytose [19]. Cette exotoxine serait importante dans

l'infection chronique à *P. aeruginosa* en induisant l'apoptose cellulaire [20], en inhibant la régénération de nouveaux tissus [21], en inhibant l'adhésion cellulaire et en induisant l'effacement des microvillosités [22]. ExoS pourrait aussi contribuer à l'inflammation pulmonaire en stimulant la prolifération lymphocytaire [23] et la production de cytokines et chimiokines inflammatoires [24]. L'implication de ExoT dans l'infection pulmonaire a aussi été caractérisée. Cette exotoxine semble interférer avec l'organisation des filaments d'actine et empêche l'exocytose, la progression du cycle cellulaire et la phagocytose.

La molécule effectrice ExoY est une adénylate cyclase induisant une accumulation d'AMP cyclique dans les cellules intoxiquées de l'hôte [25]. ExoU est une toxine nécrotique possédant une activité phospholipase. Cette protéine détruit donc les membranes cellulaires induisant la perméabilité des épithéliales, des macrophages et des fibroblastes [26]. Ces enzymes sont nécessaires à *P. aeruginosa* pour causer une infection pulmonaire aiguë et semblent jouer un rôle lors de l'infection chronique des voies respiratoires des patients atteints de fibrose kystique.

L'exotoxine A (ExoA), une autre protéine qui est importante pour la virulence de *P. aeruginosa* chez les patients atteints de fibrose kystique. Dans le cytoplasme de la cellule hôte, l'exoprotéine ExoA inhibe la synthèse protéique [27]. Cette exotoxine est responsable de dommages tissulaires au site inflammatoire, de l'invasion bactérienne et d'une activité immunosuppressive.

### II. 2. 2. L'élastase

L'élastase est une protéase majoritaire. Elle joue un rôle important dans la pathogenèse en provoquant des hémorragies et des nécroses tissulaires [28].

L'élastase de *P. aeruginosa* est un des douzaines de facteurs de virulences sécrétés par la bactérie pendant une infection [29]. Son activité in vivo n'est pas très claire, mais celle in vitro est la dégradation de l'élastine [30] et du collagène aussi bien que la protéolyse de l'immunoglobuline IgG [31], l'inhibition de la protéinase du sérum I [32] ; ceci prouve bien son potentiel pouvoir pathogène lors d'une infection par *P. aeruginosa*. L'élastase de *P. aeruginosa* PsE est une métalloprotéinase à zinc appartenant à

la famille M4 appelée aussi Pseudolysin ou aussi métalloprotéase neutrophile.

L'élastase LasB est une protéase qui dégrade l'élastine mais elle est également capable d'inactiver de nombreuses protéines comme les IgA et les IgG, des composants du complément [33], la fibrine et le collagène [30], interférant ainsi avec les mécanismes de défense de l'hôte. L'élastase LasA est une protéase qui coupe l'élastine, et la rend ainsi plus accessible à l'action d'autres protéases comme LasB, la protéase alcaline et l'élastase du neutrophile [34].

### II. 2. 3. Les phospholipases C

Les phospholipases C sont des enzymes extracellulaires thermostables, synthétisées dans des conditions de carence en phosphate. Les poumons des humains et des animaux étant recouverts de surfactant composé en grande partie de phospholipides, la phospholipase C serait donc à l'origine de dommages tissulaires des poumons lors de leur infection [35].

### II. 2. 4. Les rhamnolipides

Ce sont des glycolipides extracellulaires thermostables, qui peuvent émulsionner les phosphates membranaires grâce à leur activité détergente. Elles perturbent le transport mucociliaire et les mouvements ciliaires de l'épithélium respiratoire humain [36]. De plus, ils inhibent la phagocytose et sont également impliqués dans le maintien de l'architecture des biofilms. Ils contribuent donc à l'invasion du tissu pulmonaire par *P. aeruginosa* et sont retrouvés en concentration élevée dans les crachats de patients mucoviscidose infectés par cette bactérie [37].

### II. 2. 5. Les chromophores

*P. aeruginosa*, comme la plupart des bactéries Gram négatif aérobies, est confronté au problème d'insolubilité du fer (III) et doit donc excréter des molécules chélatant le fer (III), les sidérophores. Ces protéines permettent à ce microorganisme d'obtenir le fer des transferrines, des ferritines, de l'hémoglobine et d'autres protéines de l'hôte contenant du fer [38]. Le complexe ferri-sidérophore résultant est ensuite capté par un récepteur spécifique à la surface de la membrane externe (FpvA). *P. aeruginosa* produit deux types de sidérophores: la pyoverdine et la pyocheline.

La pyoverdine, caractérisée par sa couleur fluorescente, est un capteur et transporteur de fer. Ce chromophore est

produit in vivo lors de la colonisation des poumons des patients atteints de fibrose kystique [39]. La pyoverdine est importante pour l'acquisition du fer dans le poumon et ainsi, favorise la croissance bactérienne. La ferri-pyoverdine (pyoverdine ayant capté du fer) présente dans le milieu extracellulaire est aussi un régulateur positif de la transcription d'autres facteurs de virulence. En fait, lors de la liaison de la ferri-pyoverdine à la protéine FpvA, située à la surface de la cellule bactérienne, il y a transmission d'un signal à la protéine FpvR. FpvR relâche donc les protéines PvdI et PvdS, leur permettant de se lier à l'ARN polymérase. L'ARN polymérase liée à PvdS est nécessaire pour la synthèse de la pyoverdine, de la protéase IV (endoprotéase PrIP) et de l'exotoxine A [40].

La pyocheline agit aussi comme capteur de fer et est également responsable d'un effet pathogène secondaire. En effet, cette ferri-protéine catalyse la production de radicaux hydroxyles cytotoxiques à partir des produits des neutrophiles, soit le peroxyde d'hydrogène et les anions superoxydes. La pyocheline contribue donc à la destruction des cellules épithéliales pulmonaires [41].

La pyocyanine, un autre chromophore de *P. aeruginosa*, est toxique pour les cellules eucaryotes et procaryotes [42]. En effet, il a été démontré que la concentration de pyocyanine présente dans le sputum des patients atteints de fibrose kystique est assez importante pour induire une dysfonction des cellules épithéliales nasales. De plus, ce chromophore inactive l'inhibiteur de protéase  $\alpha$ -1PI3 au site d'infection protégeant donc les protéases de *P. aeruginosa* [38]. La formation de radicaux libres, c'est-à-dire de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène, en présence d'oxygène et de plusieurs agents réducteurs est reconnue pour être responsable de l'activité bactéricide de la pyocyanine [42]. De plus, il semble que la pyocyanine et la pyocheline agissent en synergie pour causer des dommages aux tissus aux sites d'infection de *P. aeruginosa*.

### III- RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES FACTEURS DE VIRULENCE

Deux principaux mécanismes de régulations, les systèmes à deux composants et « le quorum-sensing », permettent d'adapter la synthèse protéique bactérienne à l'environnement de la bactérie. Ainsi, l'expression de la plupart des facteurs de virulence de *P. aeruginosa* est généralement régulée par ces deux mécanismes, ce qui permet la survie et la multiplication de ce microorganisme dans l'hôte.

#### III. 1. Les systèmes de régulation à deux composants

Les systèmes à deux composants sont des systèmes de détection et de transduction de signal qui permettent à un organisme de répondre rapidement à une multitude de signaux environnementaux. Ils sont impliqués dans une grande variété de réponses régulatrices, comme par exemple la détection de l'hôte et l'invasion.

Le système le plus simple comporte deux protéines qui communiquent par transfert de phosphate d'un module « transmetteur » à un module « receveur », assurant ainsi la transduction du signal. Ces deux protéines sont :

- Une protéine histidine kinase appelée senseur, qui est souvent localisée dans la membrane cytoplasmique.

Cette protéine est constituée d'un module « détecteur » dans sa région N-terminal. Le couplage de ces deux modules permet une modulation de l'activité du transmetteur. En réponse au stimulus, cette protéine initie la transduction du signal en s'autophosphorylant sur un résidu histidine conservé du domaine transmetteur.

- Un régulateur de réponse cytoplasmique. C'est une phosphotransférase « effecteurs » dans son extrémité c-terminale. Le domaine receveur est phosphorylé sur un résidu aspartate conservé par phosphotransfert à partir du senseur. Cette phosphorylation va réguler l'activité du ou des domaines effecteurs. Ceci produit une réponse adaptée, qui se trouve être généralement une modification de l'expression des gènes.

Chez *P. aeruginosa*, il a été recensé un nombre très élevée de protéines putatives de systèmes de régulations à deux composants, avec 55 senseurs, 89 régulateurs de réponse

et 14 hybrides senseur-régulateur de réponse [43, 44]. Le nombre important de systèmes à deux composants putatifs dans *P. aeruginosa* pourrait permettre à ce microorganisme de détecter et de s'adapter à de nombreux changements d'environnement, et donc expliquer le fait qu'il soit très répandu dans la nature [43].

#### III. 2. Le quorum-sensing

Chez *P. aeruginosa*, le quorum-sensing est considéré comme le principal mécanisme de régulation de la pathogénicité et de l'adaptation écologique. Ce système de régulation est fondé sur la capacité des bactéries à communiquer entre elles, ce qui leur permet de coordonner leur comportement et ainsi de fonctionner comme un organisme multicellulaire. La communication bactérienne repose sur la production de phéromones diffusibles, des N-acyl-homosérine lactones (AHL), qui donnent une indication de la densité cellulaire dans un environnement donné. Ces AHL sont synthétisés par une AHL synthétase qui est codée par un gène de type

« I » (inducteur). Lorsque la concentration de ces molécules diffusibles atteint un certain seuil, elles se lient au régulateur transcriptionnel de type «R». Le complexe ainsi formé va activer la transcription de gènes cibles dits de virulence mais également du gène «I», d'où le terme de molécules auto-inductrices.

Par ailleurs, deux systèmes de quorum-sensing ont été caractérisés chez *P. aeruginosa* : Il s'agit de LasR/LasI et de RhIR/RhII, qui contrôlent de nombreux facteurs de virulence [45]. Un homologue des régulateurs transcriptionnels LasR et RhIR, appelé QscR (Quorum-sensing controlled repressor) a été identifié en 2001 suite au séquençage du génome de la souche PAO1 [46]. Ce régulateur QscR réprime la synthèse de facteurs de virulence comme l'élastase LasB et la pyocyanine [47]. QscR régulerait négativement les systèmes LasR/LasI et RhIR/RhII en interagissant avec les régulateurs transcriptionnels LasR et RhIR [47]. Il peut donc être intégré dans le réseau complexe d'activation des deux systèmes de quorum-sensing de *P. aeruginosa* contrairement aux systèmes LasR/LasI et RhIR/RhII, le système QscR ne possède pas d'auto-inducteur. Sa synthèse, comme celle de LasR et RhIR, est régulée positivement par le système à deux composants

GascS/GacA [47]. Toutefois, les signaux environnementaux qui activent ce système à deux composants ne sont pas encore connus. Par ailleurs, l'expression de LasR et RhIR est généralement induite par l'activateur transcriptionnel AMPc dépendant, Vfr (Virulence factor regulator) [48].

### IV- EPIDÉMIOLOGIE LIÉE À P. AERUGINOSA

Grâce à l'apport des techniques de biologie moléculaire, les études épidémiologiques ont permis de montrer que les infections dues à *P. aeruginosa* sont endémo-épidémiques avec une part de transmission croisée non négligeable pouvant atteindre 50% des cas. Néanmoins l'acquisition de cette bactérie est majoritairement endogène, tant en réanimation [49, 50] qu'en milieu de soins.

Récemment, deux équipes ont décrit des épidémies d'infections à *P. aeruginosa* (dont l'une était associée à une contamination par *Serratia marcescens*) suite à une désinfection de la valve du canal à biopsie de certains endoscopes [51]. Avec l'utilisation de la biologie moléculaire, l'étude de la chronologie de la colonisation des patients par *P. aeruginosa* ventilés mécaniquement en unité de réanimation débutait au niveau des voies aériennes [49, 52]. L'environnement hydrique comme les siphons des postes de lavage des mains peut servir de réservoir et être à l'origine de transmission croisées au patient [53]. Vingt pour cent des infections nosocomiales sont dues à *P. aeruginosa*, alors qu'on ne le trouve que dans 3.3% des infections communautaires. Chez les patients recevant une ventilation mécanique, 89% des patients étaient colonisés par *P. aeruginosa*, dont 17% développaient une pneumonie.

Les épidémies de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes dans les unités de soins intensifs de néonatalogie sont souvent associées avec une grande fréquence de mortalité. Les nouveau-nés et particulièrement les prématurés sont potentiellement exposés à un risque élevé pour les infections à *P. aeruginosa* dû à un système immunitaire fragile, souvent ils nécessitent l'oxygène supplémentaire et une ventilation mécanique durant une longue période d'hospitalisation [54,

55]. Récemment, des infections nosocomiales et des épidémies à *P. aeruginosa* O:12 sont rapportées comme étant un important problème dans les hôpitaux à cause du caractère multirésistant [56, 57].

Une épidémie d'infection respiratoire à *P. aeruginosa* résistant à l'imipénème dans un service de réanimation néonatale du centre de maternité et de néonatalogie de la Rabta de Tunis [58]. De même une épidémie à *P. aeruginosa* O:12 multirésistantes ont été rapportées dans plusieurs pays [57]. Des épidémies de *P. aeruginosa* O:11 sont rapportées en chirurgie et en oncohématologie [59, 60].

Le rôle de *P. aeruginosa* comme un important pathogène chez les enfants, spécialement chez les nouveau-nés prématurés est bien connu depuis 1960 [61]. Plusieurs sites de colonisation par ce germe sont identifiés, mais le tractus respiratoire et gastro-intestinal sont les plus fréquents, ces sites pourraient par conséquent être à l'origine de plusieurs infections. Les syndromes cliniques qui sont décrits chez des nouveau-nés infectés comprennent la conjonctivite, endophthalmie, bactériémie, méningite, diarrhée et endocardite nécrosant [62, 63].

En Tunisie, une épidémie à O:12 a été rapportée. En effet, seulement deux souches isolées pendant l'épidémie avaient des pulsotypes qui différaient de la souche clonale par deux à trois bandes, alors que la souche isolée à la fin de l'épidémie avait un pulsotype identique.

Ainsi, l'appareil d'aspiration, le personnel soignant, les tubes de ventilation, les solutions saline de lavage bronchique, les solutions de désinfectant, les tables et autre matériel médical sont rapporté comme vecteurs de souche épidémique [64].

## V- ANTIBIOTHÉRAPIE

*P. aeruginosa* n'est sensible qu'à quelques antibiotiques et le traitement des infections par le bacille pyocyanique reste, à l'heure actuelle, un problème préoccupant. En effet, un traitement antibiotique même bien conduit, surtout s'il est tardif, n'entraîne pas toujours la guérison. C'est pourquoi l'effort dans la lutte contre le bacille pyocyanique doit passer en premier lieu par la prévention, c'est à dire par les mesures d'hygiène et la vaccination. L'immunothérapie est aussi une aide

efficace pour le traitement des patients immunodéprimés.

*P. aeruginosa* est une bactérie multirésistance aux antibiotiques, que cette résistance soit acquise (plasmides, transposons) ou naturelle. L'éradication d'un biofilm bactérien pose de graves problèmes sur le plan médical. En effet, si les traitements antibiotiques classiques sont efficaces sur les bactéries planctoniques, ils s'avèrent bien moins probants sur un biofilm [65]. Donc *P. aeruginosa* est réputé pour sa résistance aux antibiotiques qui pose de sérieux problèmes thérapeutiques et favorise sa dissémination en milieu hospitalier.

La résistance naturelle du bacille pyocyanique relève d'une mauvaise perméabilité de la membrane externe et de la production constante d'une bêta-lactamase inducible. La résistance acquises sont dues à une imperméabilité accrue de la membrane externe modification des porines ou à la production d'enzymes inactivantes. Ces deux mécanismes peuvent coexister et conjuguer ainsi leurs effets. La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques est partiellement attribuée à des pompes de flux dans son biofilm, expulsant activement les composants antimicrobiens [66]. La présence de la matrice d'exopolysaccharide ralentit la pénétration d'antibiotiques et de biocides. Ainsi, l'alginate peut capturer le peroxyde d'oxygène, les radicaux libres relargués par les macrophages ou encore certains antibiotiques. De même l'instabilité du génome de *P. aeruginosa*, caractérisé par un grand pouvoir mutationnel génère des souches hypermutables à fort pouvoir compétitif [67].

Chez *P. aeruginosa* la résistance à l'imipénème est souvent liée à une perte de la porine D2 (OprD) [68], couplé à une faible hydrolyse par la céphalosporinase périplasmique [69]. Ces souches montrent une sensibilité réduite au méropénème alors que les autres bêta-lactamines restent actives. Cependant, dans la dernière décennie la résistance à l'imipénème par un mécanisme enzymatique est rapportée, ces carbapénémases sont des métallobêta-lactamases codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques généralement faisant partie d'intégrons de classe 1 [70]. Les carbapénémases induisent une résistance de haut niveau à toutes les bêta-lactamines, excepté l'aztréoname. Les souches de sérotype O:12 sont

souvent caractérisées par une multirésistance à la majorité des antibiotiques utilisés en milieu clinique [56]. La résistance à l'imipénème et au méropénème est codée par un mécanisme non enzymatique vu la sensibilité de ces souches au ceftazidime et la pipéracilline, cette résistance pourrait être due à un défaut de pénétration suite à une perte de la porine OprD ou d'une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC [71, 72].

Les infections à *P. aeruginosa* surviennent essentiellement en réanimation et plus particulièrement chez des patients immunodéprimés. *P. aeruginosa* occupe la cinquième place parmi les espèces responsables d'infections nosocomiales aux Etats-Unis [73]. En Europe *P. aeruginosa* occupe la deuxième place après *Staphylococcus aureus* parmi les espèces responsables d'infections nosocomiales en réanimation.

Malgré les différents progrès thérapeutiques, la mortalité des infections à *P. aeruginosa* reste élevée oscillant aux alentours de 30 %. Ces chiffres de mortalité sont largement expliqués d'une part par, la gravité des maladies sous jacentes des patients et d'autre part par les difficultés thérapeutiques engendrées par cette bactérie [74].

D'autre part *P. aeruginosa* ne sera souvent sensible qu'à quelques antibiotiques : ticarcilline avec acide clavulanique, gentamicine, ciprofloxacine, ceftazidime, et pipéracilline seule ou avec ajout de tazobactam. Les fluoroquinolones, la gentamicine ou l'imipénem sont encore efficaces, mais uniquement sur quelques souches bactériennes. Ainsi dans une étude Européenne de prévalence (EPIC Sudy), la diminution de la sensibilité des souches à l'imipénème, la ciprofloxacine, la pipéracilline et la ceftazidime était respectivement entre 16%-24%, 8%-37%, 5%-25% et 2%-16% [75]. Selon Paramythiotou et al. [76], le taux de résistance à l'ensemble des quatre antibiotiques majeurs anti-pseudomonas est de 10,5%. Près de la moitié d'entre eux étaient par ailleurs résistants aux aminosides. Ces chiffres permettent d'expliquer le nombre élevé d'antibiothérapies empiriques inadéquates en cas d'infections à *P. aeruginosa*.

*P. aeruginosa* est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques

par 3 mécanismes principaux : la faible perméabilité pariétale, l'inactivation enzymatique et les systèmes de pompes à efflux actif [77].

L'acquisition de nouvelles résistances est facile et rapide, favorisée en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques, notamment ceux à large spectre [78].

La forte prévalence de la multirésistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* et l'absence de perspectives de développement de nouveaux antibiotiques nécessitent d'explorer d'autres voies thérapeutiques. L'inhibition du quorum sensing s'inscrit tout à fait dans cette démarche. A la différence des antibiotiques, l'inhibition du quorum sensing n'a pas d'action directe sur la croissance bactérienne mais sur la réduction de la virulence de *P. aeruginosa* [79]. Il est ensuite nécessaire que le système immunitaire du patient élimine les *P. aeruginosa* rendus moins virulents. Cependant, cette voie thérapeutique ne sera efficace qu'à la seule condition que la souche de *P. aeruginosa* responsable de l'infection exerce une virulence principalement contrôlée par quorum-sensing.

Actuellement, trois cibles potentielles peuvent être envisagées pour inhiber le quorum-sensing :

- La synthèse et l'activité des N-acyl-homosérine lactones (AHL) ;
- La formation des complexes LasR et RhlR avec les AHL correspondants ;
- La transcription de LasR/LasI et rhlR/rhII par les activateurs GacA et Vfr.

De plus, l'activité des macrolides chez les patients atteints de mucoviscidose ou de bronchiolite diffuse pourrait être expliquée par une inhibition du quorum-sensing [80]. L'action des macrolides pourrait être anti-inflammatoire et /ou modulerait la production de protéases de *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose ou de bronchiolite diffuse.

## VI- CONCLUSION

Cette revue bibliographique révèle que les infections à *P. aeruginosa* représentent un défi microbiologique, pharmacologique et médical. L'évolution des résistances, en ce compris l'apparition incessante de mécanismes nouveaux et la complexité des phénotypes de multirésistance,

exige la mise en place de nouveaux outils diagnostiques. Le développement de nouvelles stratégies, et la découverte de cibles nouvelles est une nécessité évidente. La conduite des traitements sur des bases microbiologiques et pharmacologiques plus solides doivent constituer des priorités.

## Références

1- Kingsford N.M. et Raadsma H.W. : *The occurrence sheep affected and unaffected with fleece rot. V et Microbiol* 1997 ; 54 : 275-85.

2- Hong C.B., Donahue J.M., Giles R.C., Jr., Petrites-Murphy M.B., Poonacha K.B., Roberts A.W., Smith B.J., Tramontin R.R., Tuttle P.A. et Swerczek T.W. : *Etiology and pathology of equine placentitis. JV et Diagn Invest* 1993 ; 5 : 56-63.

3- McLennan M.W., Kelly W.R. et O'Boyle D. : *Pseudomonas mastitis in a clairy herd. Aust V et J* 1997 ; 75 : 790-2.

4- Hammer A.S., Pedersen K., Andersen T.H., Jorgensen J.C. et Dietz H.H. : *Comparison of Pseudomonas aeruginosa isolates from mink by serotyping and pulsedfield gel electrophoresis. V et Microbiol* 2003 ; 94 : 237-43.

5- Farrag H et Hosny Mahmoud A. : *Otonhea in dogs caused by Pseudomonas aeruginosa. J Am Vet Med Assoc* 1953 ; 122 : 35-6.

6- Bodey G.P., Bolivar R., Fainstein V. et Jadeja L. : *Infections caused by Pseudomonas aeruginosa. Rev Infect Dis* 1983 ; 5 : 279-313.

7- Salyers A.A. et Whitt D.D. : *Bacterial pathogenesis. A molecular approach, 2nd edn. Washington, D.C. ASM Press* 2002 ; 16 : 247-62.

8- Van Delden C. et Iglewski B.H. : *Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerging Infectious Diseases* 1998 ; 4 : 551-60.

9- Lazdunski. : *Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa et leur régulation. Méd Mal Infect* 1998 ; 28 : 109-18.

10- Pier G.B., Grout M., Zaidi T.S., Olsen J.C., Johnson L.G., Vankaskas J.R. et Goldberg J.B. : *Role of mutant CFTR in hypersusceptibility of cystic fibrosis patients to lung infections. Science* 1996 ; 271 (5245) : 64-7.

11- Pier G.B. : *CFTR mutations and host susceptibility to Pseudomonas aeruginosa lung infection. Curr opin Microbiol* 2002 ;

5(1) : 81-6.

12- Feldman M., Bryan R., Rajan S., Sheffler L., Brunnet S., Tang H. et Prince A. *Role of flagella in pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa pulmonary infection. Infect. Immun* 1998 ; 66 (1) : 43-51.

13- O'Toole G.A. et Kolter R. : *Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. Mol Microbiol* 1998 ; 30(2) : 295-304.

14- Wall D. et Kaiser D. : *Type IV pili and cell motility. Mol Microbiol* 1999 ; 32:1-10.

15- Vallet I., Olson J.W., Lory S., Lazdunski A. et Filloux A. : *The chaperone/usher pathways of Pseudomonas aeruginosa: identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98(12) : 6911-6.

16- Lynn W.A. et Golenbock D.T. : *Lipopolysaccharide antagonists. Immunol Today* 1992 ; 13 (7) : 271-6.

17- Krall R., Sun J., Pederson K.J. et Barbieri J.T. : *In vivo rho GTPase activating protein activity of Pseudomonas aeruginosa cytotoxin ExoS. Infect Immun* 2002 ; 70 (1) : 360-7.

18- Nicas T.I., Frank D.W., Stenzel P., Lile J.D. et Iglewski B.H. : *Role of exoenzyme S in chronic Pseudomonas aeruginosa lung infections. Eur J Clin Microbiol* 1985 ; 4 : 175-9.

19- Frithz-Lindesten E., Du Y., Rosqvist R. et Forberg A. : *Intracellular targeting of exoenzymes S of Pseudomonas aeruginosa via type III: dependent translocation induces phagocytosis resistance, cytotoxicity and disruption of action microfilaments. Mol Microbiol* 1997 ; 25 : 1125-39.

20- Kaufman M.R., Jia J., Zeng L., Ha U., Chow M. et Jin S. : *Pseudomonas aeruginosa mediated apoptosis requires the ADP-ribosylating activity of exoS. Microbiology* 2000 ; 146 (Pt 10) : 2531-41.

21- Barbeiri J.T. : *Pseudomonas aeruginosa exoenzyme S, a bifunctional type-III secreted cytotoxin. Int J Med Microbiol* 2000 ; 290 : 381-7.

22- Olson J.C., Fraylick J.E., McGuffie E.M., Dolan K.M., Yahr T.L., Frank D.W. et Vincent T.S. : *Interruption of multiple cellular processes in HT-29 epithelial cells by Pseudomonas aeruginosa exoenzyme S. Infect Immun* 1999 ; 67 : 2847-54.

23- Barclay N.G., Spurrell J.C., Bruno T.F., Storey D.G., Woods D.E. et Mody C.H. :

- Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S stimulates murine lymphocyte proliferation *in vitro*. *Infect Immun* 1999 ; 67: 4613-9.
- 24- Epelman S., Bruno T.F., Neely G.G., Woods D.E. et Mody C.H.: *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S induces transcriptional expression of proinflammatory cytokines and chemokines. *Infect Immun* 2000 ; 68: 4811-4.
- 25- Yahr T.L., Vallis A.J., Hancock M.K., Barbieri J.T. et Frank D.W. : ExoY, an adenylate cyclase secreted by the *Pseudomonas aeruginosa* type III system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998 ; 95 (23): 13899-904.
- 26- Finck-Barbancon V., Goranson J., Zhu L., Swa T., Wiener-Kronish J.P., Fleiszig S.M., Wu C., Mende-Mueller L. Et Frank D.W. : ExoU expression by *Pseudomonas aeruginosa* correlates with acute cytotoxicity and epithelial injury. *Mol Microbiol* 1997 ; 25: 547-57.
- 27- Wick M.J., Frank D.W., Storey D.G. et Iglewski B.H. : Structure, function, and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Annu Rev Microbiol* 1990 ; 44: 335-63.
- 28- Azghani A.O. : *Pseudomonas aeruginosa* and epithelial permeability: role of virulence factors elastase and exotoxin A. *Am J. Respir* 1996 ; 15: 132-40.
- 29- Young, L. S., *The role of exotoxins in the pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa infections*. *J Infect Dis* 1980 ; 142, (4), 626-30.
- 30- Heck, L. W., Morihara, K., Abrahamson, D. R., *Degradation of soluble laminin and depletion of tissue-associated basement membrane laminin by Pseudomonas aeruginosa elastase and alkaline protease*. *Infection and Immunity* 1986 ; 54, (1), 149-53.
- 31- Holder, I. A. ; Wheeler, R., *Experimental studies of the pathogenesis of infections owing to Pseudomonas aeruginosa : elastase, an IgG protease*. *Can J Microbiol* 1984 ; 30, (9), 1118-24.
- 32- Morihara, K. ; Tsuzuki, H. ; Harada, M. ; Iwata, T.: *Purification of human plasma alpha 1-proteinase inhibitor and its inactivation by Pseudomonas aeruginosa elastase*. *J Biochem* 1984; 95, (3), 795-804.
- 33- Hong Y.Q. et Ghebrehiwet B. : *Effect of Pseudomonas aeruginosa elastase and alkaline protease on serum complement and isolated components C1q and C3*. *Clin Immunol Immunopathol* 1992 ; 62 (2): 133-8.
- 34- Galloway D.R. : *Pseudomonas aeruginosa elastase and elastolysis revisited: recent developments*. *Mol Microbiol* 1991 ; 5(10): 2315-21.
- 35- Berka R.M., Gray G.L. et Vasil M.L. : *Studies of phospholipase c (heat-labile hemolysin) in Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 1981 ; 34 (3) :1071-4.
- 36- Read R.C., Roberts P., Munro N., Rutman A., Hastie A., Shtyock T., Hall R., McDonald-Gibson W., Lund V., Taylor G. et al: *Effect of Pseudomonas aeruginosa rhamnolipids on mucociliary transport and ciliary beating*. *J Appl Physiol* 1992 ; 72: 2271-7.
- 37- Kownatzki R., Tummler B. et Doring G. : *Rhamnolipid of Pseudomonas aeruginosa in sputum of cystic fibrosis patients*. *Lancet* 1987 ; 1 (8540): 1026-7.
- 38 - Ratledge C. et Dover L.G. *Iron metabolism in pathogenic bacteria*. *Annu Rev Microbiol* 2000 ; 54: 881-941.
- 39- Hass B., Kraut J., Marks J., Zanker S.C. et Castignetti D. : *Siderophore presence in sputa of cystic fibrosis patients*. *Infect Immun* 1991; 59: 3997-4000.
- 40- Lamont I.L., Beare P.A., Ochsner U., Vasil A.I. et Vasil M.L. : *Siderophore mediated signaling regulates virulence factor production in Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Nath Acad sci USA* 2002 ; 99 (10): 7072-7.
- 41- Brigitigan B.E., Roeder T.L., Rasmussen G.T., Shasby D.M., McCormick M.L. et Cox C.D. : *Interaction of the Pseudomonas aeruginosa. Secretory products pyocyanin and pyochelin generates hydroxyl radical and causes synergistic damage to endothelial cells. Implications for Pseudomonas-associated tissue injury*. *J Clin Invest* 1992 ; 90 (60) : 2187-96.
- 42- Hassan H.M. et Fridovich I. : *Mechanism of the antibiotic action pyocyanine*. *J Bacteriol* 1980 ; 141: 15-163.
- 43- Rodrigue A., Quentin Y., Lazdunski A., Mejean V. et Foglino M. : *Two-Component systems in Pseudomonas aeruginosa: Why so many?* *Trends Microbiol* 2000 ; 8(11): 498-504.
- 44- Stover C.K., Pham X.Q., Erwin A.L., Mizoguchi S.D., Warrenner P., Hickey M.J., et al. : *An outbreak of Pseudomonas aeruginosa endophthal-infections associated with flexible bronchoscopes*. *N. Engl. J. Med.* 2002 ; 348: 221-7.
- 45- Latifi A., Foglino M., Tanaka K., Williams P., Lazdunski A. : *A Hierarchical quorum-sensing cascade in Pseudomonas aeruginosa links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS*. *Mol Microbiol* 1996 ; 21(6): 1137-46.
- 46- Chugani S.A., Whiteley M., Lee K.M., D'Argenio D., Manoil C. et Greenberg E.P. : *QscR, a modulator of quorum sensing signal synthesis and virulence in Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98: 2752-7.
- 47- Ledgham F., Ventre I., Soscia C., Foglino M., Sturgis J.N. et Lazdunski A. : *Interactions of the quorum sensing regulator QscR: interaction with itself and the other regulators of Pseudomonas aeruginosa LasR and RhIR*. *Mol Microbiol* 2003 ; 48 (1): 199-210.
- 48- Albus A. M., Pesci E.C., Runyen-Janecky L.J., West S.E. et Iglewski B.N. *Vfr controls quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol* 1997 ; 179 (12): 3928-35.
- 49- Berthelot P., Grattard F., Mahull P et al : *Prospective Study of nosocomial colonization and infection due to Pseudomonas aeruginosa in mechanically ventilated patients*. *Intensive care Med* 2001 ; 27 (3): 503-12.
- 50- Bonten M.J., Bergmans D.C., Speiger H. et Stobberingh E.E.: *Characteristics of polyclonal endemicity of Pseudomonas aeruginosa colonization in intensive care units. Implication for infection control*. *Am, J. Respir. Crit care Med.* 1999 ;160 (4): 1212-9.
- 51- Kirschle D.L., Jones T.F. et Craig A.S. et al. : *Pseudomonas aeruginosa and Serratia marcescens contamination associated with a manufacturing defect in bronchoscopies*. *N. Engl. J. Med* 2002 ; 348 :214-20.
- 52- Talon D., Mulin B., Ronget C., Bailly P., Thonverez M. et Viel J.F. : *Risks and routes for ventilator-associated pneumonia with Pseudomonas aeruginosa*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998 ; 157 (3 Pt1): 978-84.
- 53- Doring G., Horz M., Ortel J., Cruppan H. et Wolz C.: *Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in an intensive care unit*. *Epidemiol Infect* 1993 ; 110 (3) : 427-36.
- 54- Leigh L., Stoll B.J., Rhaman M. et McGowen Jr. J. : *Pseudomonas aeruginosa infection in very low birth weight infants: a case-control study*. *Pediatr Infect Dis J* 1995 ; 14 : 367-71.
- 55- Slagle. T.A., Bifano E.M., Wolf J.W. et Gross S.J. : *Routine endotracheal cultures for prediction of sepsis in ventilated babies*. *Arch Dis Child* 1989 ; 64 : 34-8.
- 56- Bingen E., Bonacorsi S., Rohrlisch P., Duval M., Lhopital S., Brahim N et al: *Molecular epidemiology provides evidence of genotypic heterogeneity of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa serotype O:12 outbreak isolates from a pediatric hospital*. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34 : 3226-9.

- 57- Grattard F., Gaudin O.G., Pozzetto B., Ros A. et Mbida A.D. : Genotypic homogeneity of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* O:12 strains demonstrated by analysis of protein profiles, DNA fingerprints and rRNA gene restriction patterns. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993 ; 12 (1): 57-61.
- 58- Achour W., Abbassi M.S., Cherif A., Jabnoun S., Khrouf N. et Ben Hassen. A. : Épidémie d'infection respiratoire à *Pseudomonas aeruginosa* O:12 résistante à l'imipénème dans une unité de réanimation néonatale à Tunis. *Pathol Biol* 2006 ; 54(10) : 596-9.
- 59- Ben Slama K., Boudabous A., Skande G., Sherif A., Chedly F., Boelens H et al: Heterogeneity among infecting strains of *Pseudomonas aeruginosa* in diverse departments of a large Tunisian hospital. *J Hosp Infect* 2001 ; 47 : 325-7.
- 60- Kalai S., Achour W., Abdeladhim A., Bejaoui M. et Ben Hassen A. : *Pseudomonas aeruginosa* isolés de patient immunodéprimés: résistance aux antibiotiques, sérotypage et typage moléculaire. *Med Mal Infect* 2005 ; 35 : 530-5.
- 61- Asay L.D. et R. Koch R : *Pseudomonas* infections in infants and children. *N Engl J Med* 1960 ; 262 : 1062-6.
- 62- Brito D.V.D., Oliveira E.J., Matos C., Abdallah V.O.S et Gontijo Filho P.P. : An outbreak of conjunctivitis caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian newborn intensive care unit, Brazil. *J Infect Dis* 2003 ; 7 : 234-5.
- 63- Foca M., Jakob K., Whittier S., Della Latta P., Factor S. Et al: Endemic *Pseudomonas aeruginosa* infection in a neonatal intensive care unit. *N Engl J M* 2000; 343(10) : 695-700.
- 64- Lashéras A., Guisset O., Boulestreau H., Rogues A.M., Fiore M., Szajner S. et al: Réservoirs et transmission de *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation médicale. *Med Mal Infect* 2006 ; 36 : 99-104.
- 65- Brooun A., Liu S. et Lewis K. : A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; 44: 640-6.\*
- 66- Poole K.: Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2001; 3: 255-64.
- 67- Anthony M., Barbara R., Pegler M.B., Elkins M., Service H., Thamocharampillai K et al: Genetic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the sputa of Australian adult cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 2002 ; 40: 2772-8.
- 68- Trias J. et Nikaido.H. : Outer membrane protein D2 catalyses facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother* 1990 ; 34: 52-7.
- 69- Livermore D.M. : ,-Lactamases of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiot Chemother* 1991 ; 44 : 215-20.
- 70- Poirel L., Naas T., Nicolas D., Collet L., Bellais S. et Cavallo J.D. et al: Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-,lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; 44 : 891-7.
- 71- Deplano A., Denis O., Poirel L., D. Hocquet D., Nonhoff C., Byl B et al : Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2005 ; 43 :1198-204.
- 72- Kohler T. , Michea-Hamzhepour M., Epp S.F. et Pechere J.C. : Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 ; 43 : 424-7.
- 73- Edgeworth J.D., Treacher D.F. et Eykyn S.J.:A 25-year study of nosocomial bacteremia in an adult intensive care unit. *Crit Care Med* 1999 ; 27(8) : 1421-8.
- 74- Kuikka A. et Valtonen V.V.: Factors associated with improved outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a Finnish university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998 ; 17(10) : 701-8.
- 75- Vincent J.L., Bihari D.J., Suter P.M., Bruining H.A., White J., Nicolas-Chanoin M.H., Wolff M., Spencer R.C. et Hemmer M. : The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995 ; 274(8) : 639-44.
- 76- Paramythiotou E., Lucet J.C., Timsit J.F., Vanjak D., Paugam-Burtz C., Trouillet J.L., Belloc S., Kassis N., Karabinis A. et Andremont A. : Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis* 2004 38(5) : 670-7.
- 77- Plesiat P., Ramos-Aires J., Pechere J.C et Höhler T. : Systèmes d'efflux actifs chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Méd Mal Infect* 1998 ; 28(sécial) : 126-33.
- 78- Richard P., Le Floch R., Chamoux C., Pannier M., Espaze E. et Richet H. : *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a burn unit: role of antimicrobials in the emergence of multiply resistant strains. *J Infect Dis* 1994 ; 170(2) : 377-83.
- 79- Smith R., Iglewski B. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *J Clin Invest* 2003 ; 112: 1460-5.
- 80- Tateda K., Conte R., Pechere J.C., Kohler T., Yamaguchi K., Van Delden C.: Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 : 1930-3.