



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Study of the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pus and urine samples of patients hospitalized at the University Hospital of Mother and Child (CHU-ME) of N'Djamena (Chad)

Ahmat Mahamat Ahmat^{1,2*}, Hassan Mahamat Ali^{1,3}, Fissou Henry⁴, Bertille Dewa⁵, Ali Haroun Hissein^{2,3}, Kadidja Gamougam², Adoum Fouda Abderrazzack^{6,2}, Abdelsalam Tidjani², Choua Ouchemi²

¹Sectoral Program for the Fight Against AIDS, Hepatitis and Sexually Transmitted Infections (PSLSH/IST), BP 440, N'Djamena, Chad

²Department of Public Health, Faculty of Sciences and Human Health, University of N'Djamena, Chad, Laboratory of Research, Diagnosis and Scientific Expertise (LaboREDES)

³Joseph Ki-Zerbo University of Ouagadougou (Burkina Faso), Laboratory of Applied Biochemistry and Immunology (LaBIA)

⁴Direction Générale de Laboratoire Biologique

⁵Laboratory of the Mother and Child Hospital, University of N'Djamena, Chad, Laboratory of Research, Diagnosis and Scientific Expertise (LaboREDES)

⁶National response program against COVID19

Key words: Antibiotic resistance, *Pseudomonas*, PUS, Urine, Chad.

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/21.2.271-278>

Article published on August 20, 2022

Abstract

The strains of *Pseudomonas* isolated from nosocomial infections are, in most cases, resistant to antibiotics. The present work was carried out in order to determine the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various pus and urine samples of patients hospitalized in the gynecology-obstetrics and pediatrics departments of the University Hospital of Mother and Child (CHU-ME) of N'Djamena in Chad. This is a prospective analytical study conducted at the laboratory of the University Hospital of the Mother and Child, which took place from February to September 2021. The samples were analyzed according to the standard of the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology. Of the 602 samples analyzed, 26 were positive for *Pseudomonas aeruginosa*, including 8 in pus and 18 in urine, for an overall prevalence of 4.32%. Of the 13 antibiotics tested, the strains showed 100% resistance to ampicillin, ceftriaxone, cefoxitin, erythromycin, vancomycin and cotrimoxazole. A 92% resistance to piperacillin and gentamicin and a 77% resistance to aztreonam. The *Pseudomonas aeruginosa* strains tested remain 100% sensitive to Ciprofloxacin, levofloxacin and oxacillin. This will require a readjustment of the protocol for the management of infections involving *Pseudomonas aeruginosa*. Also, the sanitation of the service and equipment is an essential factor in the prevention of nosocomial infections within the center.

* **Corresponding Author:** Ahmat Mahamat Ahmat ✉ mahamatahmat.ahmat@yahoo.fr

Introduction

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à gram-négatif non fermentaire ubiquitaire et résistant aux plupart des antibiotiques. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 9,2 % des infections nosocomiales, le plaçant ainsi au 3ème rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Amazian *et al.*, 2010).

Ces infections sont généralement causées par un grand nombre des bactéries, parmi lesquelles *Pseudomonas aeruginosa* (Savadogo *et al.*, 2015; Hassan *et al.*, 2020; Bessimbaye *et al.*, 2021). Comme tout germe responsable de l'infection nosocomiales, la multirésistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* est une préoccupation croissante et connue (Fortes Deguenonvo *et al.*, 2015; Qayoom S *et al.*, 2019 ; Hassan *et al.*, 2020).

Ce pathogène opportuniste est caractérisé par sa capacité à persister et à résister au niveau de l'environnement hospitalier, et par sa rapidité d'acquisition de résistances aux antibiotiques, aboutissant rapidement à une impasse thérapeutique. Malgré les progrès thérapeutiques, la mortalité due aux infections à *Pseudomonas aeruginosa* reste élevée à cause d'une part, des difficultés thérapeutiques engendrées par cette bactérie et d'autre part, à cause des pathologies associées (Alaoui R *et al.*, 1994).

Les hôpitaux tchadiens à l'instar des hôpitaux africains ne sont pas du tout épargnés par les phénomènes des infections nosocomiales (Ouchar *et al.*, 2019 ; Hassan *et al.*, 2020 ; Bessimbaye *et al.*, 2021). C'est dans cet optique que nous avons mené une étude sur l'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* isolée des échantillons des pus divers et des urines des femmes et enfants hospitalisés au Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant (CHU-ME) de N'Djamena au Tchad. Il s'agit plus spécifiquement de déterminer la prévalence de *Pseudomonas aeruginosa* isolée des échantillons des pus et des urines et d'évaluer le niveau de résistance de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis

des antibiotiques.

Matériel et méthodes

Type, période et Cadre d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, qui s'est déroulée de février au septembre 2021 au laboratoire de bactériologie de Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant (CHU-ME) de N'Djamena. Elle a porté sur les échantillons (602) des pus divers et des urines des femmes et enfants hospitalisés au niveau des services de gynéco-obstétrique et de la pédiatrie dont les séjours d'hospitalisations ont dépassé 5 jours.

Analyses et traitements des données

Les données ont été analysé à l'aide des logiciels SPSS et EXCEL 2016.

Analyse microbiologique

Prélèvement

La procédure du prélèvement a été réalisée conformément au protocole de prélèvement du laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de la Mère et de l'Enfant (CHU-ME).

Ensemencement

Les ensemencements ont été réalisés par la technique de strie sur le milieu gélose Cétrimide à proximité du bec bunsen et les boites incubées à 42°C dans une étuve pendant 24H. Puis chaque colonie poussée a été colorée au Gram.

Isolement et caractérisation

L'isolement a été réalisée sur le milieu gélose Cétrimide AGAR. L'identification et la caractérisation biochimique a été réalisée par le test d'oxydase et la Galerie API 20E.

Conservation des souches

Les souches caractérisées ont été conservées dans le milieu Bouillon Cœur-Cerveille (BCC) à une température de -86°C.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques

(Antibiogramme) a été réalisée par la méthode classique de diffusion des disques d'antibiotiques en milieu gélosé Muller-Hinton conformément à la recommandation du comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CASFM, 2020). Seuls les antibiotiques fréquemment utilisés dans les services de gynéco-obstétrique et de la pédiatrie dudit centre (CHU-ME) ont été testés à savoir: Ampicilline, Ceftriaxone, Cefoxitine, Gentamicine, Erythromycine, Vancomycine, Oxacilline, Amikacine, Piperacilline, levofloxacin, Cotrimoxazole, Aztreonam et Ciprofloxacine.

La préparation de l'inoculum a été faite à partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu gélose a la cetrimide. L'ensemencement a été réalisé sur milieu gélose Muller Hinton (MH) dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum. Les disques d'antibiotiques ont été déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée. Les boîtes ont été ensuite laissées à la température ambiante pendant quelques minutes conformément aux normes CA-SFM.

L'incubation a été faite à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les antibiotiques testés sont représentés dans le tableau 1 par familles.

Lecture et interprétation

Les diamètres d'inhibition autour des disques ont été mesurés conformément à la directive du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2020). Certains antibiotiques comme les aminopénicillines (AM) et les céphalosporines de la 1^{ère} et 2^{ème} génération (C1-C2G) dont les résistances sont déjà rapportées par le CASFM dans sa version 2020, ont été testés du fait de leurs utilisations courantes au sein du CHU-ME.

Results

Durant la période de l'étude, 602 échantillons ont été analysés (tout matériel biologique confondu) dont 71,5 % (431/602) des échantillons proviennent de la gynéco-obstétrique et 28,5% (171/602) proviennent de la pédiatrie. Le nombre des échantillons par service est représenté dans le tableau 2.

Table 1. Liste des antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance.

Antibiotique	Famille	Code	Charge du disque
Ampicilline	β-lactamine	AMP	10µg
Ceftriaxone		CRO	5µg
Cefoxitine		CX	30µg
Oxacilline		OX	1µg
Piperacilline		PIL	100µg
Aztreonam		ATM	30µg
Erythromycine	Macrolide	E	15µg
Vancomycine	Glycopeptide	VA	30µg
Gentamicine	Aminoside	GEN	10µg
Amikacine		AK	
Ciprofloxacine		CIP	5µg
Levofloxacin	Fluoroquinolones	LEV	5µg
Cotrimoxazole	Sulfamides	SXT	25µg

Sur les 431 échantillons provenant de la gynéco-obstétrique, 108 échantillons étaient des pus dont 3 cas ont été testés positifs à la *Pseudomonas aeruginosa*, et 323 étaient des urines parmi lesquels 11 cas étaient positifs à la *Pseudomonas aeruginosa*.

De même, sur les 171 échantillons provenant de la pédiatrie, 58 étaient des pus avec 5 cas testés positifs et 113 échantillons étaient des urines dont 7 cas positifs. L'effectif des cas positifs selon le service est représenté sur la figure 1.

Sur l'ensemble des 602 échantillons analysés, 26 se sont révélés positifs à la *pseudomonas aeruginosa*, soit un pourcentage global de 4,32% (26/602). La

répartition par pourcentage selon la nature de matériel biologique (pus divers et urines) est représentée sur la figure 2 ci-dessous :

Table 2. Répartition de nombre des échantillons par service.

Services	Echantillons			
	Pus	Urines	Effectifs	Pourcentage
Pédiatrie	58	113	171	28,5%
Gynéco-obstétrique	108	323	423	71,5 %
Total	166	436	602	100%

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La répartition de l'antibiorésistance des 26 souches de *P. aeruginosa* isolées et caractérisées durant l'étude est représenté dans la figure 3.

Le profil de résistance par famille des antibiotiques ainsi que les pourcentages par famille des antibiotiques. Parmi les familles des antibiotiques testées on a le Macrolide, le Glycopeptide et les Sulfamides avec des profils de résistance constante a 100% en suite le β -lactamine avec un profil de résistance compris entre 77% à 100% soit un pourcentage de 73,80%.

Discussion

Nous avons eu à analyser 602 échantillons dont 171 échantillons de pus et 431 échantillons d'urines. Sur 602 échantillons, 26 étaient révélés positifs à *P. aeruginosa*, soit un pourcentage de 4,32%. Ce résultat corrobore avec de ceux de Yasmeen *et al.*, 2015 qui ont rapporté un pourcentage de 4,39% et cela diffère de ceux de Frikh *et al.*, 2017 et Qayoom *et al.*, 2019 qui ont rapporté respectivement un pourcentage de 7,4% et 9,16%. Cette différence dans nos pourrait s'expliquer par la différence de la nature, de la provenance (services) et des zones d'étude des échantillons analysés.

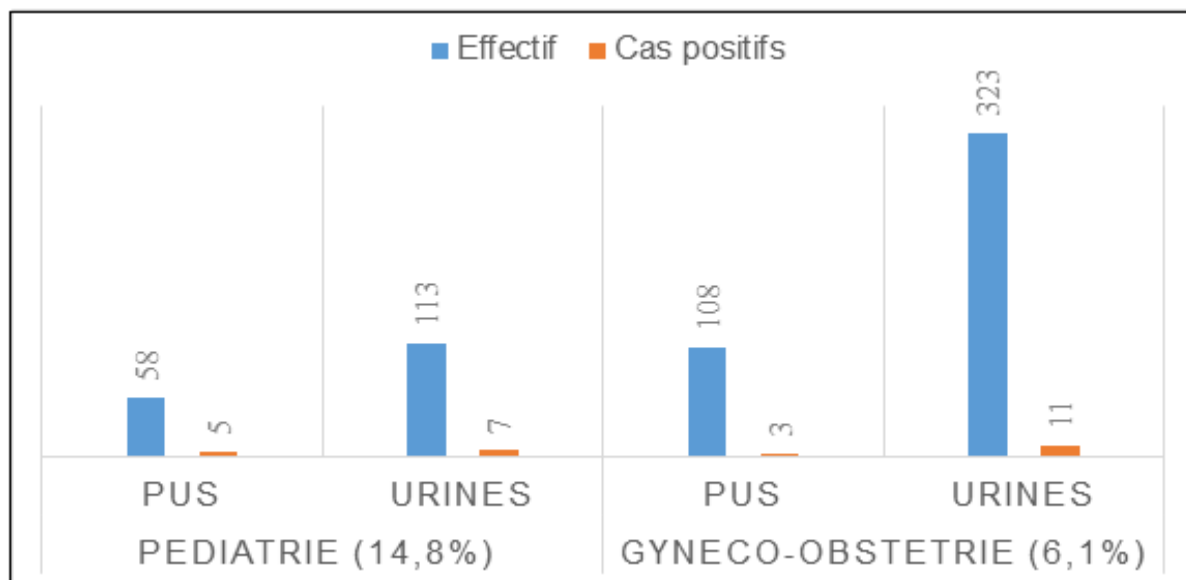


Fig. 1. Effectif des cas positifs selon les services.

En pédiatrie, 171 échantillons ont été reçus et analysés dont 12 cas positifs à *P. aeruginosa*, soit un pourcentage global de 7,02%. En termes de pourcentage par nature de matériel biologique, en

service pédiatrique, un pourcentage de 8,62% (5/53) de cas positifs a été notifié sur les échantillons des pus et 6,19% (7/113) sur ceux des urines. Nos résultats sont proches de ceux Savadogo *et al.*, 2015 qui ont

rapporté un pourcentage respectif de 8,9% et 13%. Le rapprochement de ces résultats pourrait s'expliquer par la zone d'étude dont le Tchad et le Burkina partagent le même climat sub-saharien. Par contre, ils diffèrent de ceux de Frikh *et al.*,2017 et Hanane *et al.*,2019 et qui ont rapporté un pourcentage plus bas, respectivement de 4% et 3% de *Pseudomonas aeruginosa* isolé au niveau du service de la pédiatrie. La discordance des résultats pourrait s'expliquer par la différence des zones d'étude et le niveau d'hygiène des services dans les hôpitaux. Au niveau du service de gynéco-obstétrique, 431 échantillons ont été reçus, dont 14 cas positifs à la *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui nous donne un pourcentage de 6,1% (14/431). La répartition en pourcentage en terme de nature de matériel biologique est de 2,78% (3/108) et 3,41 %

(11/323) respectivement pour les pus et les urines. Le niveau faible des pourcentages au niveau du service de la gynéco-obstétrique par rapport au service de la pédiatrie pourrait s'expliquer par le niveau d'hygiène acceptable au sein de ce service et le maintien de façon aseptique les matériels de travail. Ce qui réduirait au maximum le niveau de la contamination du sol, des matériels de travail, des lits d'hospitalisation, les portes des salles d'hospitalisation ainsi que d'autres matériel par microorganisme. Par rapport à l'étude de l'antibiorésistance, il ressort de cette étude que, l'ensemble des souches isolées au niveau des échantillons des différents services ont présenté un même niveau de résistance et de la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques testés.

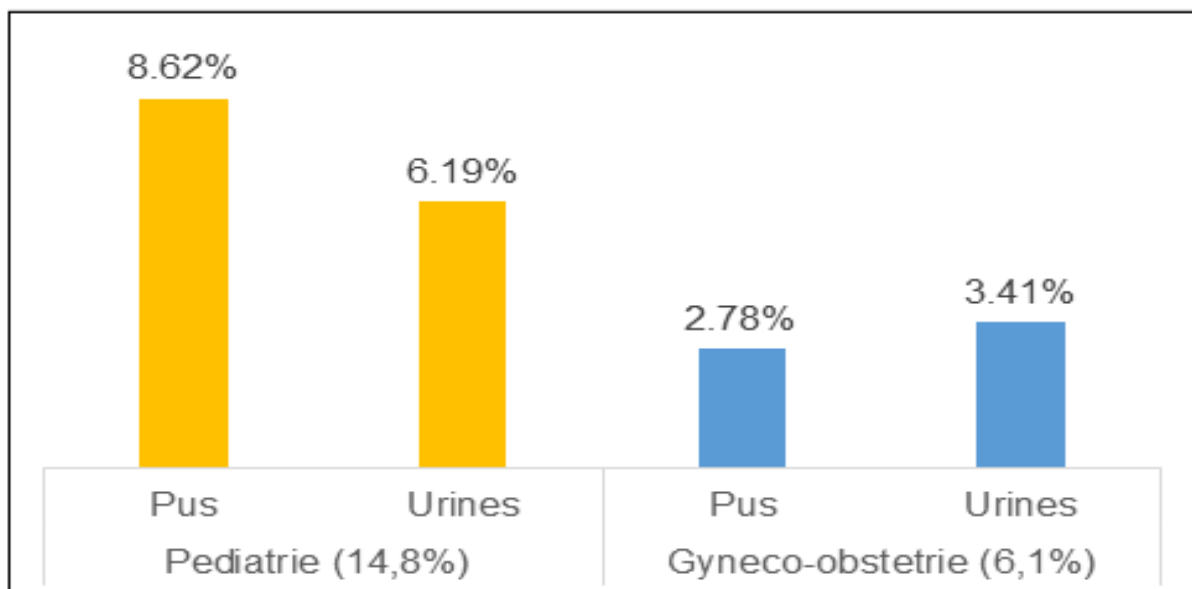


Fig. 2. Pourcentage de *P. aeruginosa* en fonction de la nature des échantillons.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* testés présentent une résistance à un bon nombre des antibiotiques testés. En effet, sur le 13 antibiotiques testés, les souches ont présenté une résistance de 100% à : l'ampicilline, la Ceftriaxone, la cefoxitine, l'érythromycine, la vancomycine et au cotrimoxazole. Une résistance de 92% à la piperacilline et à la gentamicine et de 77% à l'aztreonam. Ces résultats corroborent avec ceux Savadogo *et al.*,2015 et Zohreh *et al.*,2016 mais ils diffèrent à ceux de Frikh *et al.*,2017 Qayoom *et al.*,2019 et alkhudairy *et al.*,2020 qui ont rapporté un niveau très faible de ces

antibiotiques. Cette différence entre ces résultats s'expliquerait par le niveau de l'utilisation de ces antibiotiques. Dans certains hôpitaux, ces antibiotiques qui le plus souvent sont sous formes injectables sont utilisés de façon incontrôlée ce qui met sous pression les germes, les poussant à développer des résistances. Pour ce qui est de *P. aeruginosa*, il est connu que le *P. aeruginosa* peut développer une résistance adaptative avec la formation d'un biofilm permettant au microorganisme de se protéger ou bien une résistance par mutation ou acquisition d'intégrons de plasmide

ou par transposons (López-Causapé *et al.*,2018). Ces résistances adaptives ou par mutation peuvent mener à la réduction de l'atteinte de la cible, à la modification de la cible d'antibiotiques ou encore par mécanisme de désactivation par les enzymes (Kos *et al.*, 2015 ; Talebi-Taher *et al.*,2016 ; Attika *et*

al.,2019). La souche de *Pseudomonas aeruginosa*, reste 100% sensible à la Ciprofloxacine, à l'Oxacilline et à la levofloxacine. Ces résultats sont similaires à ceux de Frikh *et al.*,2017 Qayoom *et al.*,2019 *et alkhudairy et al.*,2020.

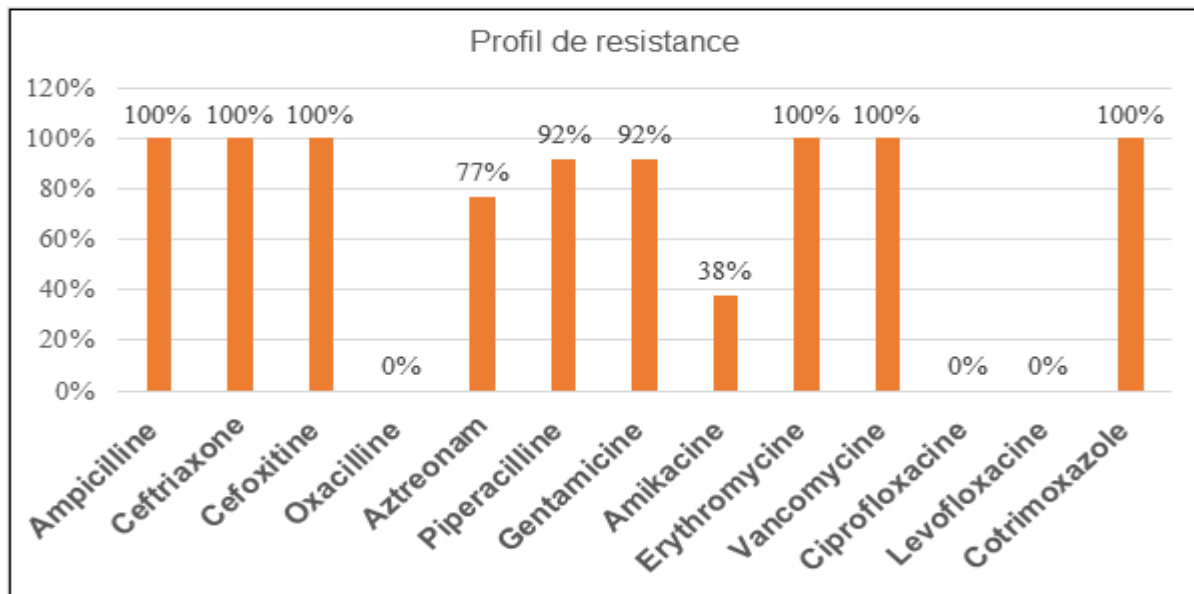


Fig. 3. Profil de résistance de *P. aeruginosa* aux différents antibiotiques testés.

Pour ce qui de la résistance par famille des antibiotiques, les souches isolées présentent une résistance globale de 65% à la famille des aminosides, une résistance de 78,1% à la famille de bêta-lactamine et de 100% de résistance à la famille de glycopeptide, macrolide et sulfamide. Ces résultats montrent que les souches de *P. aeruginosa* isolées et caractérisées présentent un profil de multirésistance aux antibiotiques, car elles présentent une résistance à aux moins trois (3) familles d'antibiotiques (Cottalorda *et al.*, 2017). L'acquisition de cette multirésistance pourrait s'expliquer par plusieurs phénomènes (Attika *et al.*, 2019) y compris les phénomènes décrits ci-hauts (Kos *et al.*, 2015, Talebi-Taher *et al.*, 2016).

Conclusion

En sommes, les résultats de cette étude montre que malgré les multirésistances des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des échantillons au niveau de la pédiatrie et de la gyneco-obstetrique du CHU-ME, celles-ci montrent encore un niveau de

résistance acceptable pour certains antibiotiques (100% de sensibilité à la ciprofloxacine, à levofloxacine l'Oxacilline et à la Levofloxacine). Mais, le niveau de résistance des souches aux antibiotiques couramment utilisés comme l'ampicilline et la ceftriaxone peuvent être un handicap pour la prise en charge des malades hospitalisés au niveau du CHU-ME. Il faut donc, un réajustement du Protocole pour adapter la prise en charge des infections impliquant *Pseudomonas aeruginosa* au niveau du CHU-ME. De même, une salubrité du service et de matériel est un facteur essentiel de la prévention des infections nosocomiales adéquate pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Remerciements

Nous remercions CHUME d'avoir mis à notre disposition le matériels adéquate et au laboratoire de Recherche de Diagnostic et d'Expertise Scientifique (laboReDES) pour la réalisation de ce travail et aux techniciens de dite laboratoire pour leur appui technique.

Références

- Alaoui R, Benchekroun FL, Jazouli N.** 1994. Les abcès cérébraux d'origine otogène: à propos de 35 cas. *Revue de laryngologie, d'otologie et de rhinologie* **115(3)**, 183-186.
- Alkhudhairy, Al-Shammari MMM.** 2020. Prevalence of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diabetic foot infections in Iraq *New Microbe and New Infect*; **35**, 100-661.
- Amazian K, Rossello J, Castella A, Sekkat S, Terzaki S, Dhidah L.** 2010. Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *Eastern Mediterranean Health Journal* **16**, 1070-1078.
- Attika Rehman, Wayne M, Patrick¹, Iain L. Lamont.** 2019. Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *Journal of Medical Microbiology* **68**, 1–10.
- Behzadi P, Baráth Z, Gajdác M.** 2021. It's Not Easy Being Green: A Narrative Review on the Microbiology, Virulence and Therapeutic Prospects of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics* **10**, 42.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10010042>.
- Bessimbaye N, Djimadoum M, Issakou BV, Claude O, Nicolas B, Abdelsalam T, Choua O.** 2021. Biochemical profile and resistance phenotype of bacteria isolated from the operating site departments of the National Reference University Hospital of N'Djamena *World Journal of Advanced Research and Reviews* **10(01)**, 381–396.
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.** 2020. CASFM / Société Française de Microbiologie V1.2.
- Cottalorda, S Dahyot, J Lebeurre, A Soares, M Réveillon.** 2017. Caractérisation phénotypique et moléculaire d'isolats urinaires de *Pseudomonas aeruginosa*. RICAI Paris, France. Hal-02269321.
- Fortes Deguenonvo Traoré K, Dia Badiane NM, Ya R, Cissoko Y, Diouf A, Lathe NA, Diouf SA, Cissé VMP, Manga MN, Ndour CT, Soumaré M, SOW AI, Seydi M.** 2015. Résultat d'une enquête d'incidence des cas des infections nosocomiales a bactéries multiresistantes dans un centre hospitalier de Dakar (Sénégal). *Revue Malienne d'Infectiologie et de la Microbiologie* **5**, 8-25.
- Frikh Maleb A, Nyaledome Ablavi I, Elouennass M, Lemouer A.** 2017. *Pseudomonas aeruginosa*: épidémiologie et état actuel des résistances étude rétrospective sur trois ans. *Journal of Marine Science and Engineering* **21(2)**.
- Gill JS, Arora S, Khanna SP, Kumar KH.** 2016. Prevalence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from a tertiary level Intensive Care Unit. *Journal of Global Infectious Diseases* **8**, 155-9.X.
- Hanane Zahir, Ghizlane Draiss, Nouredine Rada, Aicha Abourrahouat, Imane Ait sab, Mohamed Sbihi, Mohammed Bouskraoui, Nabila Soraa.** 2019. Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. *Rev Franco des Labo.* ; N° **511**, 65-70.
- Hassan MA, Cheikna Z, Ali HH, Yeri EH, Denis E, Doumani D, Roumane M, Abdelsalam T, Aly S.** 2020. Survey of the Germ Antibiorésistance Implied In Infections of the Surgical Site Infection (SSI) To the General Hospital Of National Reference (HGNR) Of N'Djamena (CHAD) *International Journal of Medical Science and Clinical Invention* **7(11)**, 5086-5094.
<https://doi.org/10.18535/ijmsci/v7i11.05>.
- Kos V, Déraspe M, McLaughlin RE, Whiteaker JD, Roy PH, Alm RA, Corbeil J, Gardner H.**

2015. The Resistome of *Pseudomonas aeruginosa* in Relationship to Phenotypic Susceptibility. Antimicrob. Agents Chemother **59**, 427–436.

López-Causapé C, Cabot G, del Barrio-Tofino E, Oliver A. 2018. The Versatile Mutational Resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. Front. Microbiol **9**, 685.

Ouchar Mahamat O, Lounnas M, Hide M, Dumont Y, Tidjani A, Kamougam K. 2019. High prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in Chadian hospitals. BMC Infect Dis **28(1)**, 205.

Qayoom S, Rashid A, Kohli A, Masoodi T, Amin M. 2019. Prevalence and antibiotic sensitivity pattern of *pseudomonas aeruginosa* isolates from respiratory samples, pus samples and body fluids in a tertiary care hospital, Kashmir. Indian Journal Microbiology Research **6(4)**, 345-349.

Savadogo M, Dao L, Koueta F. 2015. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au service des

maladies infectieuses du CHU YO, Burkina Faso: à propos deux cas. Pan African Medical Journal **21**, 78 <https://doi.org/10.11604/pamj..21.78.4739>.

Talebi-Taher, M, Majidpour A, Gholami A, Rasouli-Kouli S, Adabi M. 2016. Role of efflux pump inhibitor in decreasing antibiotic cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a burn hospital in Iran. Journal of Infection Developing Countries **10**, 600–604.

Yasmeen Islam S, Islam S, Uddin M, Jahan R. 2015. Prevalence of urinary tract infection, its causative agents and antibiotic sensitivity pattern: A study in Northern International Medical College Hospital, Dhaka. Northern International Medical College Journal **7(1)**.

Zohreh H, Eshagh B, Mohamad E, Ali Akbar J. 2016. Virulence genes profile of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian children with UTIs. Acta Med Iran **54(3)**, 201-210.