

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologies**  
**Filière : science Biologique**  
**Option : Microbiologie Moléculaire et Médicale**



**Réf :.....**

**Mémoire de Fin de Cycle**  
**En vue de l'obtention du diplôme**

**MASTER**

***Thème***

**Etude de la résistance aux antibiotiques chez les  
souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de  
divers prélèvements pathologiques**

Présenté par :  
**IFOURAH Lamia & KHITMANE Sihem**  
Soutenu le : **21 juin 2017**

**Devant le jury composé de :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	
Mme GHAROUT. A	MCB	Présidente
M <sup>lle</sup> YANAT .B	MCB	Encadreur
Mme ZENATI .K	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**



*A cœur vaillant rien d'impossible, à conscience tranquille tout est accessible.  
Quand il y a le souci de réaliser un dessin tout devient facile pour arriver à nos  
fins .Malgré les obstacles et difficultés qui s'opposent, nous avons pu achever  
notre travail grâce à l'aide de dieu le tout puissant, qui nous a guidés dans la  
bonne voie de la science et de la connaissance, et qui nous a donné la patience, la  
santé et la volonté.*

*Nous adressons nos profondes gratitudees et nos sincères remerciements à notre  
encadreur Mademoiselle YANAT.B qui nous a soutenu et orienté tout au long  
de notre travail et sans lui nous serions perdues ;*

*Nous remercions encore madame GHAROUT et madame ZANATI d'avoir  
accepter d'évaluer notre travail*

*Nous remercions Hassiba et Hanane pour leurs aides et compréhensions*

*Nous tenions à remercier tous ceux qui nous ont aidé et participé de près ou de  
loin à la réalisation de ce travail, par leur conseils, soutiens ou orientations*

# *Dédicaces*



*J'ai le plaisir de dédier ce travail à mes très chers parents qui se sont sacrifiés pour moi, merci beaucoup pour votre présence dans ma vie et de votre prise en charge de tous les cotés, je vous souhaite une vie pleine de bien être et de santé.*

*À mon seul frère Lounis.*

*À ma chère sœur Fatiha, et son époux Aziz, et ses trois princes Abdraouf, Abdalmoumen, Abdhaï.*

*À mes chères sœurs chaque une de son nom : Zakia, Rebiha, Amina je vous souhaite une vie pleine de réussite et de joie.*

*À ma grande famille, mes oncles et tantes.*

*À Sihem mon amie de l'enfance jusqu'à ce jour, on a partagé ensemble tous nos expériences, nos moments de joie et détresse.*

*À ma chère amie Nadia et toute sa famille.*

*À toutes personnes qui m'aiment du proche ou du loin.*

*En fin je remercie toutes personnes qui m'ont aidés tout au long de ma vie.*



*LAMIA*

# *Dédicaces*



*Je tien à dédier ce travail à mes chers parents qui ont trimé sans relâche, dépensé sans compter, pour leurs générosité, leurs présence permanente et leur aide appréciable toute au long de ma vie et durant ce travail, que dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

*A mon cher frère Nabil,*

*A mes chères sœurs Nabila, soraya et massilva,*

*les mots ne suffisent guère pour exprimer mon attachement, et l'affection que je porte pour vous, je vous souhaite un avenir plein de joie, de santé et de la réussite dans vos études.*

*A mes nièces Yasmine, Hanane, Kenza, Amira*

*A tout les membres de la famille, oncles tantes, cousins et cousines.*

*A ma copine et binômes Lamia, en souvenir des moments délicats que nous avons passé ensemble durant la réalisation de ce travail et au lien solide qui nous a unis pour l'accomplir.*

*A tous les étudiants de microbiologie moléculaire et médicale.*

*A tous les binômes de mademoiselle Yanat, spécialement Hassiba, Hanane, Ilham, Salma.*

*Sihem*



# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des tableaux en annexe

Listes des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

## Matériel et Méthodes

I. Souches bactériennes.....	10
II. Confirmation de l'identification.....	10
III. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	11
IV. Détection des phénotypes de résistance.....	12
IV. 1. Recherche de la production de BLSE.....	12
• D-D test (double disque de synergie).....	12
IV. 2. Recherche de la production de carbapénèmases.....	12
• Hodge test modifié.....	12
• Carba NP test.....	13
• Test CIMm.....	14
• Test d'inhibition à l'EDTA.....	14

## Résultats

I. Souches bactériennes.....	16
II. Identification des souches bactériennes.....	16
III. Caractéristiques de la population.....	17
IV. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	19
V. Détermination des phénotypes de résistance.....	20
Discussion.....	24
Conclusion.....	27

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> La taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	1
<b>Tableau II :</b> Les facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	5
<b>Tableau III :</b> Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.....	14
<b>Tableau IV :</b> Représentation des souches résistantes aux antibiotiques.....	19
<b>Tableau V :</b> Représentation des phénotypes de résistances.....	23

## Liste des tableaux en annexe

<b>Tableau I :</b> Représentation des données collectées.....	V
<b>Tableau II :</b> diamètres (mm) des zones édités par le CLSI, 2015 pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	VI
<b>Tableau III :</b> Résultats de l'identification par mini galerie biochimique.....	VI
<b>Tableau IV :</b> Résultat de l'antibiogramme des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	IX

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous le microscope.....	2
<b>Figure 2 :</b> L'illustration schématique de la pompe à efflux MexAB-OprM chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	7
<b>Figure 3:</b> Schéma du Hodge test modifié.....	13
<b>Figure 5 :</b> Disposition des disques (Méthode EDTA- disque synergie).....	15
<b>Figure 6 :</b> Disposition des disques (Méthode des disques combinés).....	15
<b>Figure 7 :</b> Résultat des tests biochimiques.....	16
<b>Figure 8 :</b> Test d'oxydase.....	17
<b>Figure 9 :</b> Test de la catalase.....	17
<b>Figure 10 :</b> Répartition des souches de <i>P.aeruginosa</i> selon l'âge.....	17
<b>Figure 11 :</b> Répartition des souches de <i>P.aeruginosa</i> selon le sexe.....	18
<b>Figure 12 :</b> Répartition des souches de <i>P.aeruginosa</i> selon les laboratoires.....	18
<b>Figure 13 :</b> Répartition selon la nature de prélèvement.....	19
<b>Figure 14 :</b> Résultat de l'antibiogramme de la souche <b>1884</b> .....	20
<b>Figure 15 :</b> Résultat de l'antibiogramme de la souche <b>1910</b> .....	20
<b>Figure 16 :</b> Absence de synergie de la souche <b>481</b> .....	20
<b>Figure 17 :</b> Résultats de Hodge test de la souche <b>1253</b> .....	21
<b>Figure 20:</b> Résultats de carba-NP test modifié.....	21
<b>Figure 21 :</b> Résultats de test CIM des souches résistantes à l'imipénème.....	22
<b>Figure 18 :</b> Résultat du test EDTA-disque de synergie.....	22
<b>Figure 19 :</b> résultats de test des disques combinés.....	22





## Liste des abréviations

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ADP** : Adénosine DiPhosphate

**AHL** : AcylHomoserine

**AmpC** : chromosomal located cephalosporine

**ARN**: Acide RiboNucléique

**ATCC**: American Type Culture Collection

**BESE**: Brazilian Extended beta-lactamase

**BMR**: Bactérie Multi Résistante

**CFTR**: Cystic Fibrosis Transmembranaire Regulator

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute

**CTX-M**: Céfotaximase-Munich

**DD-test**: Double Disque test

**EDTA**: Ethylene Diamine Tetra Acetic

**ETA**: ExoToxine A

**Gélose TSI**: Three Sugar Iron

**Ig A**: Immunoglobulline A

**Ig G**: Immunoglobulline G

**IL**: InterLeukine

**IMP** : Imipenème

**KPC** : *Klebseilla Pneumoniae* carbapénèmase

**LPS** : LipoPolySaccharide

**MBL** : Métallo-Béta-Lactamase

**CIMm** : Modified Carbapenemase Inactivation Method

**MH** : Muller Hinton

**NDM**: New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase

**QRDR**: Quinolone Resistance Determining Regions

**OXA**: oxacillinases

**QS**: Quorum Sensing

**SHV**: SulfHydrol Variable

**TEM**: Temoneira

**VEB**: Vietnam Extended spectrum  $\beta$ -Lactamases

# Introduction

### INTRODUCTION

*Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) est un bacille à Gram négatif isolé pour la première fois en 1882 par Gessard (Lister *et al.*, 2009). Il s'agit d'un pathogène ubiquitaire que l'on rencontre dans l'eau, le sol, la flore normale de la peau et le tractus gastro-intestinal de l'homme et l'animal. Il se comporte comme un pathogène opportuniste, il est à l'origine d'importantes infections nosocomiales causant la mortalité et la morbidité chez les patients immunodéprimés et chez les patients atteints de mucoviscidose (Bahmani *et al.*, 2016, Moradali *et al.*, 2017).

*P. aeruginosa* est l'espèce type du genre *Pseudomonas* qui est composé de 12 autres espèces (Yeterian, 2010). La taxonomie de *P. aeruginosa* est présentée dans le tableau I.

**Tableau I :** Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (Bergeys, 2004)

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Embranchement</b>	Prockaryota
<b>Division</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gammaproteobacteria
<b>Ordre</b>	Pseudomonadales
<b>Famille</b>	<i>Pseudomonadaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>aeruginosa</i>

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs non fermentaires, droits ou légèrement incurvés, ayant une taille de 0,5 à 1,0 µm sur 1,5 à 5,0 µm (Figure 1), aérobies, oxydases positives, non sporulés et généralement mobiles par un flagelle polaire. Certaines espèces telles que *P. aeruginosa* produisent des pigments hydrosolubles fluorescents ou pyoverdine de couleur jaune-vert, une odeur de fleur de tilleul se dégage à la culture La plupart des espèces sont psychotropes. Leur croissance est possible entre 4°C (voir moins) et 43°C (Ghafir et Daube, 2007).



**Figure 1 :** Image de *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope (Kamer, 2013)

*P. aeruginosa* est impliqué dans plusieurs infections humaines telles que les infections cutanées (kératites, brûlures infectées, ulcères du pied diabétiques), les infections des voies urinaires, et les infections pulmonaires telles que les pneumonies et la mucoviscidose (Guendouze *et al.*, 2017). Cette dernière est une maladie génétique autosomique récessive qui affecte 70 000 patients dans le monde (Balazs, 2017). Cette maladie est liée à une mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembranaire Regulator) qui est localisée sur le chromosome 7 qui joue un rôle dans la régulation des échanges ioniques des cellules avec le milieu extérieur, son dysfonctionnement provoque une augmentation de la viscosité du mucus et accumulation dans les voies respiratoires qui perturbe le phénomène de clairance ciliaire et qui favorise la colonisation bactérienne, *P. aeruginosa* étant l'agent pathogène majeur infectant les patients mucoviscidosiques (Forozesh Fard *et al.*, 2010).

La pathogénicité de *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose a de multiples causes, sa capacité à acquérir un type mucoïde qui le rend insensible aux défenses innées et acquises de l'hôte, sa résistance aux antibiotiques et le potentiel destructif de nombreuses toxines bactériennes. De plus, ces bactéries se regroupent en microcolonies, entourées de slime contribuant à la viscosité des sécrétions bronchiques (Le Bourgeois et Vrielynck, 2005).

En effet, *P. aeruginosa* possède tout un arsenal de facteurs de virulence impliqués dans l'infection aigue et chronique (Tableau II). Certains sont liés à sa surface jouant un rôle dans l'adhésion et la motilité, comme **le pili de type IV** ou **le pili de type fimbriae** et **le flagelle** polaire qui est unique. Ce dernier est responsable de la mobilité de type "swimming" (*Pseudomonas aeruginosa* peut nager dans des milieux aqueux, propulsé par son flagelle polaire) (Mattick, 2002), mais qui intervient également dans la mobilité de type "swarming"

(c'est une forme de mouvement dépendant de flagelle qui est observé dans des environnements visqueux tels que l'agar semi-solide) (Harshey, 2003). Le flagelle serait également impliqué dans l'adhérence aux cellules épithéliales respiratoires et participe aussi à la virulence en induisant une réponse inflammatoire par interaction avec les récepteurs *Toll*, *TR5* et *TR2*, ce qui a pour conséquence la production d'IL-8, d'IL-6 et de mucine. Le flagelle est très immunogène, surtout au cours des infections chroniques et particulièrement dans la mucoviscidose (Ben Hadj Khelifa *et al.*, 2011).

D'autres facteurs de virulence sont impliqués dans la colonisation de l'hôte. Le **quorum sensing (QS)** est considéré comme le principal mécanisme de régulation de la pathogénicité et de l'adaptation écologique chez *P. aeruginosa*. Ce système de régulation est fondé sur la capacité des bactéries à communiquer entre elles, ce qui leurs permet de coordonner leurs comportements, ainsi de fonctionner comme un organisme multicellulaire. La communication bactérienne repose sur la production des phéromones diffusibles, des N-acyl-homosérines lactones (AHL), qui donnent une indication de la densité cellulaire dans un environnement donné. Trois systèmes du « *quorum sensing* » ont été caractérisés chez *P. aeruginosa*: il s'agit de LasR/LasI, de RhIR/RhII et le 2-heptyl-3- hydroxy-4-quinolone (Ben Hadj Khelifa *et al.*, 2011).

En outre, d'autres facteurs liés à la virulence de *P. aeruginosa* sont sécrétés dans le milieu extérieur, parmi lesquels l'**exotoxine A (ETA)** qui est le composé protéique le plus toxique produit par cette espèce, il est composé de deux domaines: le domaine A qui possède l'activité mono-ADP-ribosyltransférase et le domaine B qui interagit spécifiquement avec le récepteur présent à la surface de la cellule hôte et entraîne un arrêt de la synthèse protéique et provoque la mort de la cellule cible par nécrose (Georgescu et al., 2016). Le **pyoverdine**, sidérophore permettant la chélation du fer de l'environnement nécessaire au métabolisme de *P. aeruginosa*, joue un rôle régulateur dans la sécrétion de l'exotoxine A, de l'endoprotéase PrpL ainsi que sa propre sécrétion (Ben Hadj Khelifa *et al.*, 2011).

Parmi les facteurs impliqués dans l'infection chronique, la formation de **biofilm**. L'alginate et la formation de biofilm. L'architecture des biofilm formées par *P. aeruginosa* est composée de microcolonies enchâssées dans une matrice d'alginate (exopolysaccharides chargé négativement). Cette couche de biofilm protectrice, signe d'une installation durable des bactéries aux structures contaminées, gêne la pénétration des antibiotiques et permet une résistance à la phagocytose et aux anticorps. Trois étapes peuvent être distinguées dans la

formation du biofilm : une étape initiale d'attachement des cellules planctoniques à une surface biotiques ou abiotiques, qui commence comme un processus réversible, qui devient alors irréversible. L'étape suivante est une étape de prolifération aboutissant à la formation de microcolonies. Ces structures sont impliquées dans la production d'alginate et la maturation du biofilm, finalement une étape de structuration du biofilm. Cette architecture s'ajoute encore à l'obstruction et à la viscosité des poumons atteints de la mucoviscidose (Chambers *et al.*, 2013).

L'émergence de la résistance aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique. Parmi les bactéries identifiées comme bactéries multirésistantes (BMR), *P. aeruginosa*. Ce qui a restreint le choix thérapeutique dans le traitement des infections nosocomiales et chroniques causées par ce germe. Ceci peut être expliqué par l'extraordinaire capacité de cette bactérie à développer une résistance à une large gamme d'antibiotiques par le biais de divers mécanismes moléculaires qui sont souvent simultanément présents chez les souches cliniques (Potron *et al.*, 2015).

Les souches de *P. aeruginosa* sont naturellement résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques telles que les aminopénicillines, les céphalosporines de première et de deuxième génération, le céfixime, le céfuroxime, le céfotaxime, le céftriaxone, l'ertapénème, la kanamycine, la tétracycline, le chloramphénicol, le triméthoprim et l'acide nalidixique (CASFM, 2015), et ceux en raison de plusieurs mécanismes intrinsèques: une production d'une  $\beta$ -lactamase chromosomique inductible de classe C (céphalosporinase) qui n'est pas inhibée par le clavulanate, une diminution de la perméabilité membranaire et aux quatre systèmes d'efflux multidrug connus: MexAB-OprM, MexXY/OprM(OprA), MexCD-OprJ, et MexEF-OprN qui confèrent à la bactérie une résistance naturelle de bas niveau à différentes classes d'antibiotiques incluant les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'imipénème (Chalhoub *et al.*, 2017). Toutefois, les systèmes d'efflux MexAB-OprM et MexXY/OprM(OprA) sont les plus fréquemment rencontrés chez les souches cliniques. Les gènes codant pour ces pompes d'efflux sont sous l'influence de différents facteurs de régulation, et de ce fait, les niveaux d'expression de ces systèmes diffèrent significativement selon les conditions (Moradali *et al.*, 2017).



**Tableau II : Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* ((Ben Hadj Khelifa et al., 2011).**

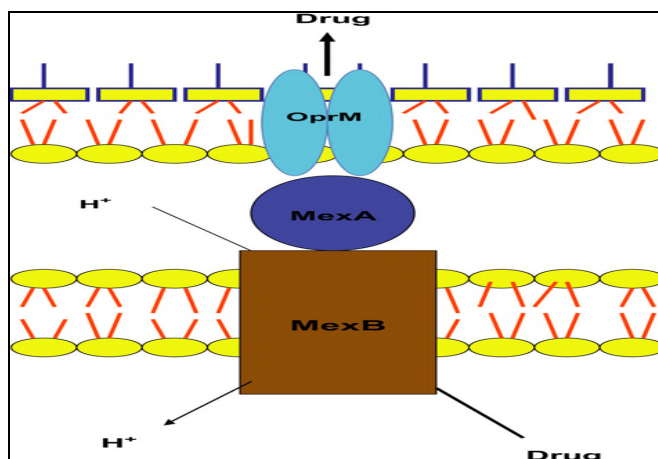
Facteur de virulence	Mécanisme de virulence	Effet pathogène induit
Lipopolysaccharide (LPS)	Stimulation de production de cytokines	Choc
Pili	Adhésion aux cellules épithéliales respiratoires	Pathogénécité respiratoire
Flagelle	Adhésion aux mucines Mobilité : rôle dans l'internalisation	Diffusion bactérienne
Alginate	Provoque le phénotype muqueux Adhésion aux cellules trachéales Inhibition de la phagocytose, de l'action des antibiotiques et de la réponse immunitaire	Pathogénécité respiratoire Résistance aux défenses de l'hôte (phagocytose) et aux antibiotiques Responsable du caractère mucoïde des souches
Exotoxine A	Inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles	Mort cellulaire : nécrose tissulaire Rôle important dans la virulence
Exoenzyme S	Effet cytotoxique Prolifération des LT	Nécrose tissulaire entraîne des lésions du glycopeptide, de la vimentine et des IgG et IgA
Exoenzyme U	Rôle antiphagocytaire	Lésions des cellules épithéliales Responsable de bactériémie voire de choc septique
Rhamnolipide	Effet détergent	Hydrolyse du surfactant
Elastases (LasA+LasB)	Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène	Destruction des tissus contenant de l'élastine Rôle important dans la virulence
Protéase alcaline	Protéolyse	Rôle dans les infections cornéennes
Pyocyanine + Pyoverdine	Action bactéricide sur les autres bactéries Augmentation de la libération d'élastase Inhibition des battements des cils Captage du fer Induisent la synthèse de radicaux libres	Favorise l'émergence du bacille pyocyanique Diminution de la clairance des bacilles Rôle dans la survenue de vascularité d'artères pulmonaires.
Lectines solubles	Inhibition des battements ciliaires des cellules Pulmonaires	Pathogénécité respiratoire Rôle dans l'infection chronique
Phospholipase C	Effet cytolytique local	Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire) Rôle dans l'infection aiguë et chronique.

La résistance adaptative est une forme de résistance instable et transitoire, qui est induite en présence d'un antibiotique spécifique et d'autres stress environnementaux. Ce type de résistance repose principalement sur les altérations induites dans l'expression des gènes et la production de protéines ou des altérations dans les cibles des antibiotiques (Fernández et al., 2011). Ce mécanisme a été perçu comme médiateur de la résistance des isolats de *P. aeruginosa* aux  $\beta$ -lactamines, aux aminoglycosides, aux polymyxines et aux fluoroquinolones (Khaledi et al., 2016).

*P. aeruginosa* peut acquérir une résistance aux antibiotiques à travers des mutations dans les gènes intrinsèques ou par acquisition horizontale à partir d'autres bactéries par le transfert de plasmides portant des gènes de résistance aux antibiotiques (Davies et Davies, 2010). Les mutations situées au niveau du système de régulation des gènes codant pour l'AmpC et des pompes d'efflux peuvent augmenter l'activité du promoteur déclenchant l'expression du gène et l'hyperproduction de ces protéines ayant pour conséquence une résistance de haut niveau aux antibiotiques (Blair et al., 2015).

L'hyperproduction de l'AmpC est due principalement à l'inactivation des deux gènes de régulation *ampD* (répresseur) *ampR* par des mutations ponctuelles (Juan et al., 2005). Les mutations survenant au niveau des systèmes de régulation négative tels que *mexR*, *nalD*, *nalB*, et *nalC* induisent dérépression de l'opéron *mexAB-oprM* induisant l'hyperproduction de la pompe MexABOprM et l'augmentation de la résistance aux carbapénèmes (Kao et al., 2016). De même, l'hyperproduction d'autres pompes multidrug telles que MexXY et MexCD-OprJ peuvent, via des mutations dans les systèmes de régulation induire une augmentation de la résistance à différentes classes d'antibiotiques (Lister et al., 2009).

Une autre altération mutationnelle jouant un rôle important en clinique est attribuée à la porine OprD. Cette dernière est localisée au niveau de la membrane externe de *P. aeruginosa*, caractérisée comme une porine spécifique aux carbapénèmes. En effet, la perte ou la réduction de ces porines peut réduire la perméabilité membranaire à l'égard des carbapénèmes. L'émergence de la résistance à l'imipénème et la réduction de la sensibilité au méropénème ont été rapportées comme étant une conséquence due aux mutations de *oprD* (Moradali et al., 2017).



**Figure 2 : L'illustration schématique de la pompe d'efflux MexAB-OprM chez *Pseudomonas aeruginosa* (Askoura *et al.*, 2011)**

Les gènes codant pour les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les carbapénèmases sont d'importance clinique non seulement à cause de leurs activités d'hydrolyse d'une large gamme de  $\beta$ -lactamines (céphalosporines à large spectre, carbapénèmes), mais aussi pour leurs fortes disséminations à travers le monde (Moradali *et al.*, 2017). Les BLSE sont des enzymes d'inactivation de type sérines. Ce sont des  $\beta$ -lactamases de classe A selon la classification d'Ambler et du groupe 2be selon la classification Bush-Jacoby-Medeiros (Bush et Jacoby, 2010). Elles sont caractérisées par une très grande diversité. La majorité des BLSE dérivent des enzymes de type TEM et SHV mais de nouvelles BLSE ont été décrites telles que CTX-M, OXA, PER. Cinq types de BLSE de classe A (TEM, SHV, PER, VEB et GES) ont été détectées chez *P.aeruginosa*. Il existe neuf types connus de BLSE GES, jusqu'à présent quatre de ces types de GES (GES-1, -2, -8 et -9) ont été trouvés dans *P.aeruginosa* (Wang *et al.*, 2006).

Les carbapénèmases sont divisées selon Ambler en trois classes. La classe A inclue les KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), SME, NMC-A, IMI, GES, la classe B est constituée des métallo- $\beta$ -lactamases "M $\beta$ L" (IMP, VIM, NDM) et la classe D comporte les oxacillinasés (OXA-50, OXA-51, OXA-60) (Overturf, 2010). Pour certaines carbapénèmases la prévalence varie d'un pays à un autre, pour d'autres comme les métallo- $\beta$ -lactamases de type IMP, VIM et NDM, elles connaissent, actuellement, une dissémination mondiale touchant tous les continents (Moradali *et al.*, 2017). Pratiquement tous les types de carbapénèmases, excepté SIM-1, ont été détectées chez *P. aeruginosa*, ce qui a permis de

constater une augmentation graduelle des souches résistantes aux carbapénèmes (Meletis et Bagkeri, 2013; Hong *et al.*, 2015).

La résistance chromosomique de *P. aeruginosa* aux fluoroquinolones est due à des substitutions au niveau des cibles: L'ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*) et/ou la topoisomérase IV (*parC* et *parE*), ou bien à une hyperproduction de la pompe d'efflux (Sun *et al.*, 2014). Récemment, un mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones a été décrit chez les souches de *P. aeruginosa*, il s'agit de l'acétyl transférase modifiée Aac(6')Ib-cr (Yang *et al.*, 2015).

Un mécanisme de résistance aux aminoglycosides implique la méthylation de l'ARNr 16S du site A de la sous-unité ribosomale 30S, qui interfère avec la liaison aux aminoglycosides et favorise ainsi une résistance de haut niveau aux aminoglycosides cliniquement pertinents comme la gentamicine, la tobramycine et l'amikacine (Doi Et Arakawa, 2007).

En Algérie, la carbapénémase de type VIM-2 qui était associée aux déterminants de résistance aux aminosides AadB et AacA4, a été identifiée chez des souches de *P. aeruginosa* isolées entre 2010 et 2011 à Tlemcen (Touati *et al.*, 2013). L'enzyme VIM-4 a été détectée chez des souches de *P. aeruginosa* isolées à Annaba et à Skikda en (Mellouk *et al.*, 2016). Une autre enzyme type BLSE (TEM-111) a été isolée chez une souche de *P. aeruginosa* à Tlemcen (Drissi *et al.*, 2008).

L'objectif de ce travail était d'étudier la sensibilité aux antibiotiques de souches de *P. aeruginosa* issues de prélèvements pathologiques isolées au cours de l'année 2017 afin d'avoir un aperçu sur l'évolution de la résistance de ces souches aux antibiotiques. A cet effet, nous avons procédé à la méthodologie suivante:

- ✓ Collecte des souches suspectées *P. aeruginosa* au niveau des laboratoires d'analyses médicales de Béjaia (Laboratoire du Dr. Lalaoui, laboratoire du Dr. Moualek, laboratoire du Dr. Djama, laboratoire du Dr. Kebiche) et au niveau de l'hôpital d'Amizour. Ces souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvements urinaires et de pus.
- ✓ Confirmation de l'identification des souches collectées.
- ✓ Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

- ✓ Détermination des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines (Hodge test, Carba NP, test de CIM).

# Matériel et Méthodes

### Matériel et méthodes

#### I. Souches bactériennes

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie I de l'université A. Mira de Béjaia. Un total de 18 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été collectées au cours d'une période de 3 mois allant de Février à Mai 2017 au niveau de quatre laboratoires d'analyses médicales de la wilaya de Bejaia (Laboratoire du Dr. Lalaoui, laboratoire du Dr. Moualek, laboratoire du Dr. Djama, laboratoire du Dr. Kebiche) et au niveau de l'hôpital d'Amizour. Ces souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvements urinaires et de pus (**Tableau I en Annexe II**)

Des souches de références ont été utilisées comme contrôle. Il s'agit de: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii* (productrice de carbapénémase de type OXA-23).

#### II. Confirmation de l'identification

L'identification des souches a été réalisée par coloration de Gram et par une mini galerie biochimique incluant les tests suivants.

##### - Test de catalase

Consiste à déposer au centre d'une lame quelques colonies et d'ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) à 10%. Une souche catalase positive se manifeste par une effervescence.

##### - Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Ce test est réalisé en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique. Une réaction positive se traduit par une coloration violette en 2 minutes environ.

##### - Fermentation des sucres et production de gaz et de $H_2S$ sur gélose TSI

Consiste en l'ensemencement à partir d'une suspension bactérienne de la pente par stries serrées puis le culot par piqûre profonde et centrale. Après incubation de 24h à 37 °C

Fermentation du glucose (+) : virage au jaune du fond du tube.

Fermentation du lactose (+) : virage au jaune de la pente.

Production de gaz : apparition de bulles ou d'une poche gazeuse.

Production d'H<sub>2</sub>S : noircissement du milieu.

### - Utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons

L'ensemencement est réalisé par stries serrées de la pente du milieu et l'incubation est effectuée à 37 °C pendant 24h à 7jours, un virage au bleu indique un test positif.

### - Milieu king A

L'ensemencement est réalisé par stries serrées de la pente du milieu à partir d'une boîte de Petri à l'aide d'une anse, l'incubation est effectuée à 37° C pendant 24h à 7 jours. Un virage au bleu (pigment pyocyanine) indique un test positif.

### - Milieu king B

L'ensemencement est réalisé par stries serrées de la pente du milieu à partir d'une boîte de Petri à l'aide d'une anse, l'incubation est effectuée à 37° C pendant 24h à 7 jours, un virage au jaune-vert (pigment pyoverdine) indique un test positif.

## III. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques a été réalisée selon la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015).

- Des boîtes de géloses MH ont été ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne contenant 5 ml d'eau physiologique et quelques colonies pour obtenir un inoculum d'environ 10<sup>8</sup> UFC /ml (0,5 Mc Farland).
- Des disques d'antibiotiques ont été déposés sur la boîte à l'aide d'une pince stérile.
- Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24H.



- Après mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètre, les résultats (résistant R, sensible S ou intermédiaire I) ont été interprétés selon les recommandations du CLSI (2015) (**Tableau II en Annexe III**).

### IV. Détection des phénotypes de résistance

#### IV. 1. Recherche de la production de BLSE

- **D-D test (double disque de synergie)**

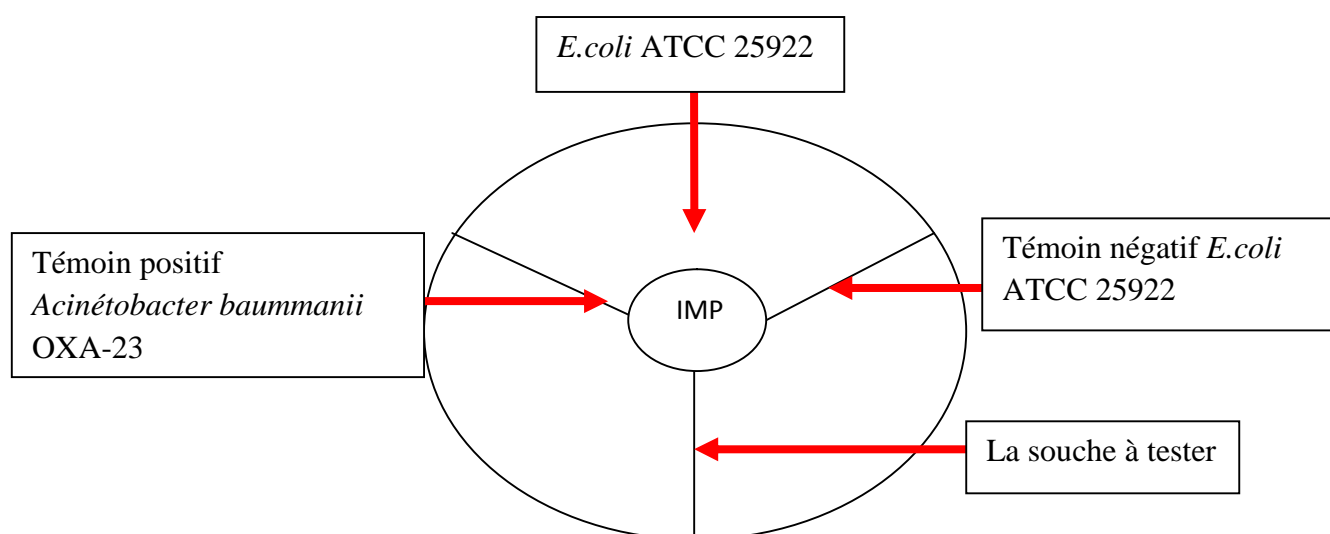
Ce test repose sur l'inhibition de la bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) par l'acide clavulanique. Ainsi, des disques de céfetazidime (CAZ 30µg) et de pipéracilline (PI 100 µg) ont été déposés sur une gélose Mueller Hinton à distance de 20 mm centre à centre d'un disque de TCC (ticarcilline/acide clavulanique, 75/10 µg). L'apparition d'une image de synergie entre le disque de TCC et CAZ et/ou PI indique la production de BLSE (Naas, 2003).

#### IV.2. Recherche de la production de carbapénémases

- **Hodge test modifié**

La recherche de la production de carbapénémase a été réalisée pour les souches résistantes ou intermédiaires à l'imipénème.

Ce test repose sur l'utilisation d'un disque d'imipénème (10µg) et la souche de référence sensible à tous les antibiotiques *E.coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose MacConkey. Les souches test suspectes de produire une carbapénémase et les souches témoins (témoin positif : *Acinetobacter baumannii* OXA-23 productrice d'une carbapénémase et témoin négatif : *E.coli* ATCC 25922 non productrice d'une carbapénémase) ont été ensemencées en striés depuis le disque vers le bord de la gélose (Figure 3). Après incubation à 37°/24H, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour de disque d'imipénème (Lee *et al.*, 2010).



**Figure 3:** Schéma du Hodge test modifié

- **Carba NP test modifié**

Ce test consiste à la détection d'une production d'une carbapénémase selon le protocole suivant

- ✓ Mettre dans un tube Eppendorf 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02%)
- ✓ A partir d'une culture fraîche prélever quelques colonies et les mettre dans le tampon puis vortexer 1 à 2 min.
- ✓ Transférer 100µl dans 2 tubes Eppendorf « A » et « B ».
- ✓ Ajouter 100µl de la solution A (préparation de la solution A en Annexe IV) dans le tube Eppendorf « A » et 100µl de la solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf « B ».
- ✓ Vortexer 5 sec puis incubé à 37°C pendant un maximum de 2 h (*Bakour et al.*, 2015).

L'interprétation des résultats se fait par lecture visuelle dans chaque tube Eppendorf selon le tableau suivant

**Tableau II :** Interprétation des résultats du Carba NP test modifié (*Bakour et al.*, 2015)

## Matériel et méthodes

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénèmase
Rouge	Orange/jaune	Production de carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

- **Test CIMm (The Modified Carbapenem Inactivation Method)**

Ce test permet la détection d'une production d'une carbapénèmase.

- Dans un bouillon MH ajouter quelques colonies bactériennes des souches à tester et les souches de contrôles.
- Mettre dans chaque tube un disque d'imipénème et incuber 4h à 37°C.
- Après l'incubation retirés les disques et les déposés sur une boîte de gélose MH qui estensemencée par *E.coli* ATCC.
- Incuber les boîtes 24h à 37°C.
- Les diamètres des zones d'inhibition supérieure ou égale à 19mm veulent dire absence d'une production d'une carbapénèmases, et si les diamètres sont inférieure à 18mm les souches sont considérées comme productrice d'une carbapénèmase (*Pierce et al.*, 2017).

- **Test d'inhibition à l'EDTA**

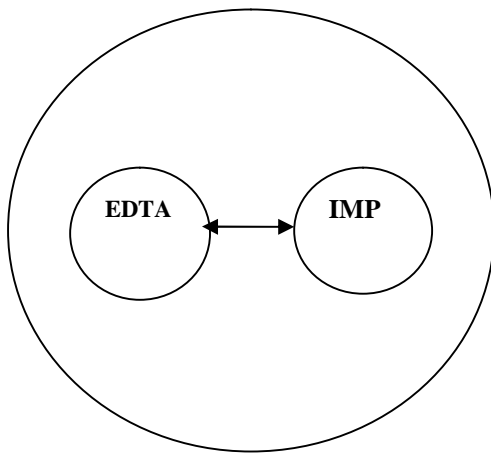
- **La méthode EDTA- disque de synergie**

Ce test permet de différencier les metallo-béta-lactamases (MBL) des autres bêta-lactamases hydrolysant les carbapénèmes en utilisant un chélateur d'ions l'EDTA.

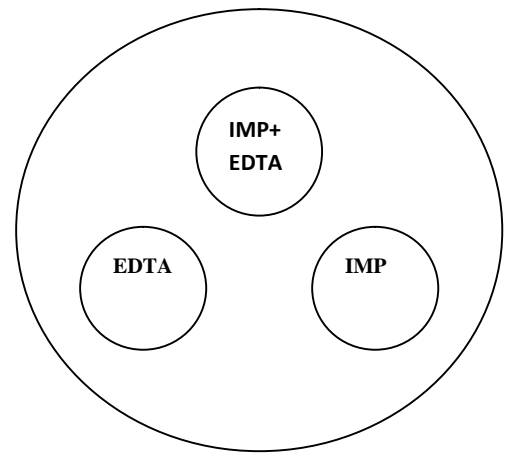
- 5ul d'EDTA 0,5 M à pH8 ont été déposés sur un disque blanc (diamètre de 6 mm), placé à une distance de 15 mm centre à centre avec un disque d'imipénème.
- Un résultat positif se traduit par une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (*Behera et al.*, 2008).

- **Méthode des disques combinés**

- Sur une gélose Mueller Hinton ensemencée par la souche à tester, deux disques d'imipénème ont été déposés, l'un utilisé comme témoin et l'autre additionné de 5µl d'une solution d'EDTA. Un disque contenant uniquement l'EDTA a été utilisé comme témoin négatif.
- Après incubation à 37°C pendant 18H, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés. Si les diamètres autour du disque IMP-EDTA sont supérieurs à celui du disque d'IMP seul d'au moins 6mm, la souche est considérée comme productrice de MBL (*Yong et al, 2002*).



**Figure 5 :** Disposition des disques  
(Méthode EDTA- disque synergie)



**Figure 6 :** Disposition des disques  
(Méthode des disques combinés)

# Résultats

## Résultats

### I. Souches bactériennes

Au cours de notre étude, un total de 18 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été collectées au niveau de quatre laboratoires d'analyses médicales et de l'hôpital d'Amizour.

### II. Identification des souches bactériennes

L'identification des souches est réalisée en utilisant une mini galerie biochimique (Tableau en Annexe V)



A: TSI

B: Citrate de Simmons

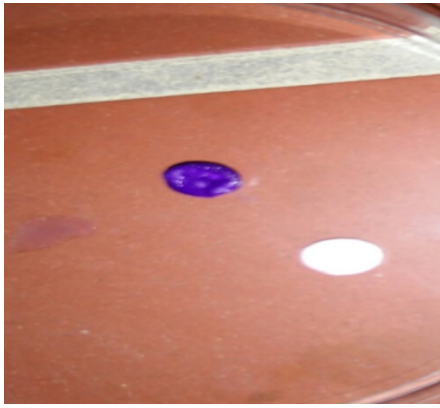
C: king A

D: king B

E: King A souche de référence de *P*

F : King B: souche de référence de *P.a*

**Figure 7 :** Résultat des tests biochimiques



**Figure 8 :** Test d'oxydase

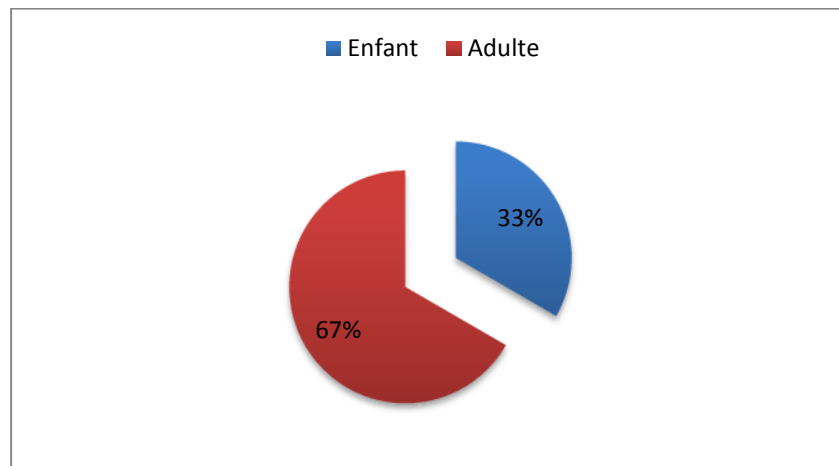


**Figure 9 :** Test de la catalase

## III. Caractéristiques de la population

### • Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* selon l'âge

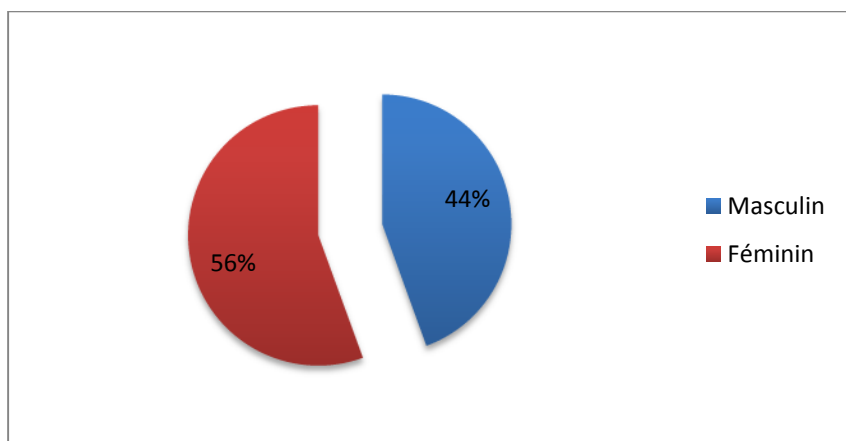
Selon la figure la catégorie adulte présente 67% (12/18) et chez l'enfant 33% (6/18), ce qui signifie que *Pseudomonas aeruginosa* touche presque toutes les tanches d'âge avec une fréquence plus élevée chez l'adulte.



**Figure 10 :** Répartition des souches de *P.aeruginosa* selon l'âge

### • Répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* selon le sexe

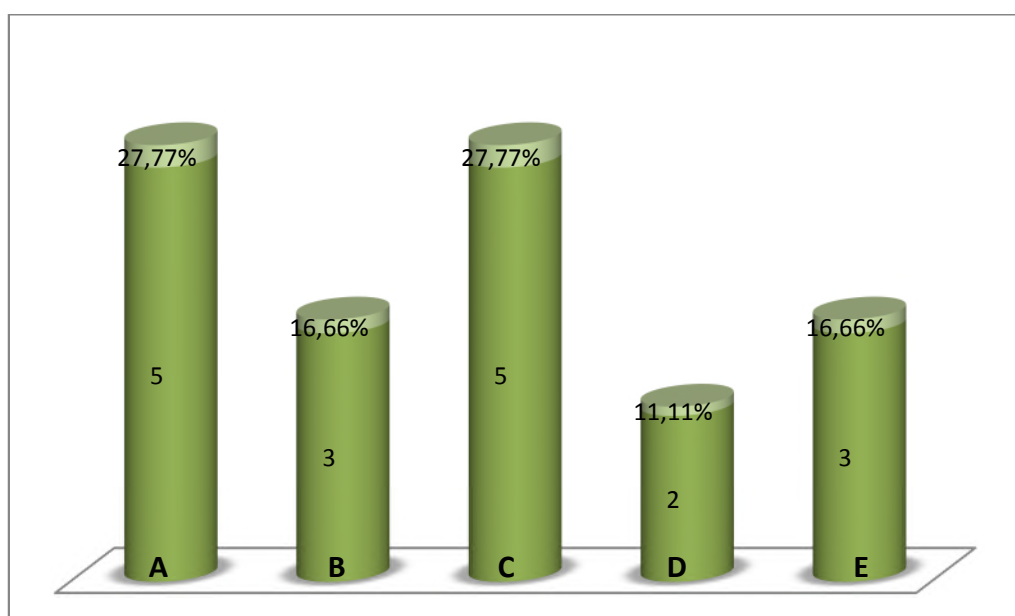
On remarque une prédominance de sexe féminin 56% (10/18) par rapport au sexe masculin 44% (8/18).



**Figure 11** : Répartition des souches de *P.aeruginosa* selon le sexe

- Répartition des souches de *P.aeruginosa* selon les laboratoires**

Les laboratoires de Dr Kebiche et Dr Lalaoui présente le même pourcentage de 27.77%, puis le laboratoire de Dr Djama et l'hôpital d'Amizour avec 16.66% et en dernier le laboratoire de Dr Moualek 11.11%.



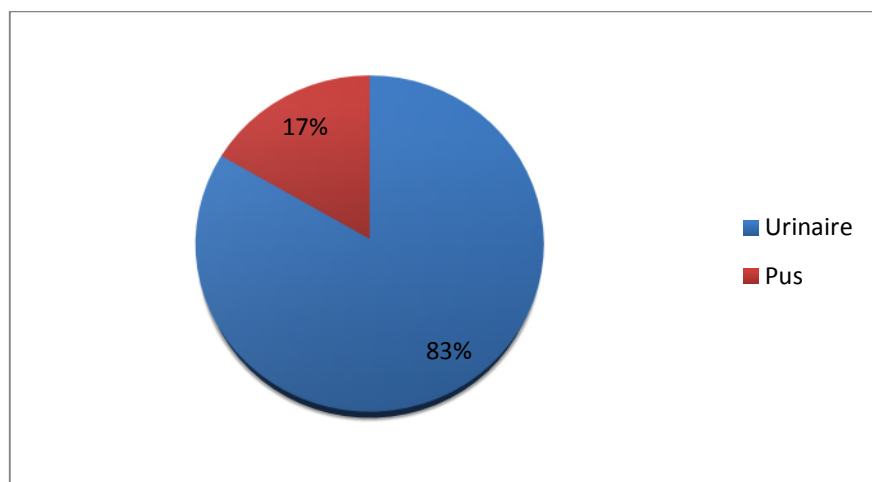
**A** : laboratoire de Dr Lalaoui    **B** : laboratoire de Dr Djama    **C** : laboratoire de Dr Kebiche    **D** : laboratoire de Dr Moualek    **E** : Hôpital d'Amizour

**Figure 12** : Répartition des souches de *P.aeruginosa* selon les laboratoires

- Répartition selon la nature de prélèvement**



On remarque une domination de type de prélèvement urinaire de 83% (15/18), par rapport au pus 17% (03/18).



**Figure 13 :** Répartition selon la nature de prélèvement

#### IV. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

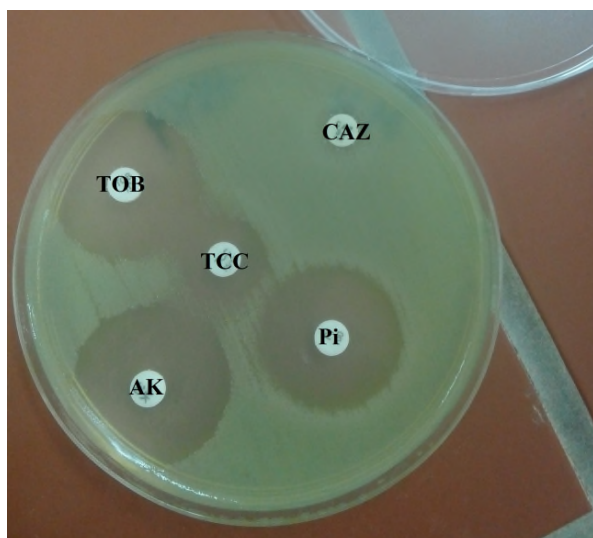
##### ➤ Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

Selon le tableau la résistance aux bêta-lactamines est présentée par une résistance de 88.88% à la CAZ, 94.44% au TCC, 22.22% au Pi et 33.33 à l'IMP. Pour ce qui concerne les autres classes d'antibiotiques, tout d'abord pour les aminosides, un taux de résistance modéré la gentamycine (5.55%) et le même pour la tobrarnycine. Pour les fluoroquinolones, la ciprofioxacine présente un taux de résistance de 11.11%.

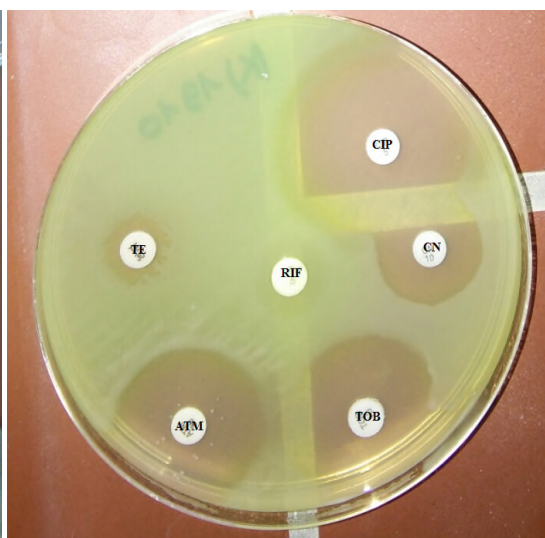
**Tableau III :** Représentation des souches résistantes aux antibiotiques

Antibiotiques	CAZ	TCC	Pi	IPM	CIP	GN	TOB
Nombres de souches résistantes	16	17	4	6	2	1	1
Taux de résistance %	88.88%	94.44%	22.22%	33.33%	11.11%	5.55%	5.55%

## ➤ Résultats des antibiogrammes (Tableau en Annexe VI)



**Figure 14 :** Résultat de l'antibiogramme de la souche **1884**

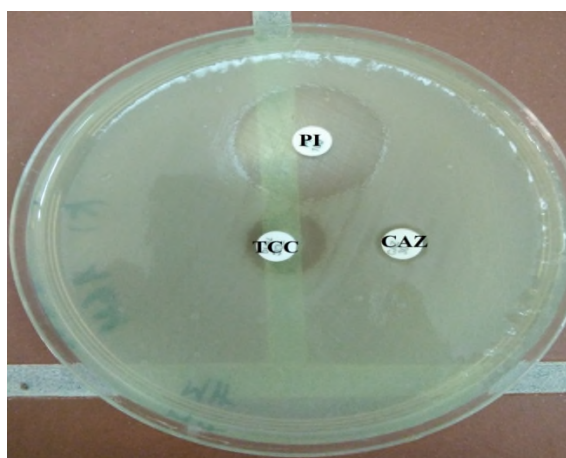


**Figure 15 :** Résultat de l'antibiogramme de la souche **1910**

## V. Détermination des phénotypes de résistance

### ➤ Recherche d'une production de $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu

Le DD-test réalisé sur gélose Mueller Hinton de 14 souches CAZ résistantes a démontré l'absence d'une image de synergie entre le disque d'antibiotique TCC et CAZ

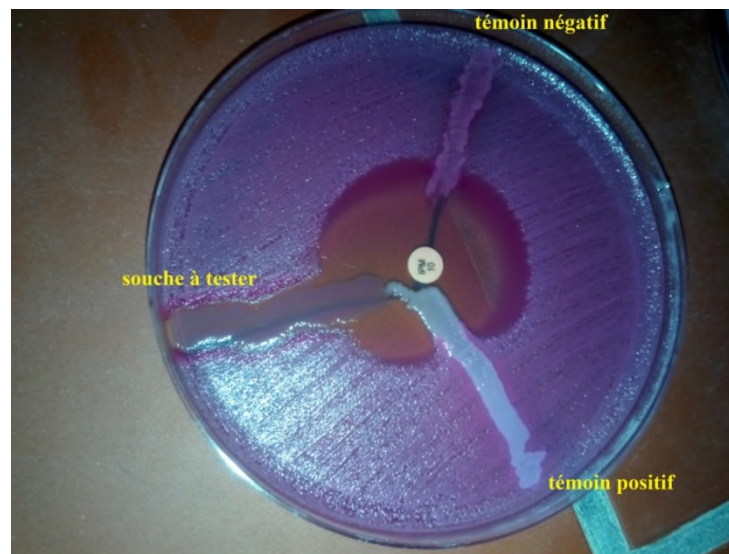


**Figure 16 :** Absence de synergie de la souche **481**

### ➤ La recherche de la production de carbapénémase :

- Hodge test modifié :

Le test a été négatif pour 06 souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes ou intermédiaires à l'imipénème qui sont probablement non productrice d'une carbapénémase.



**Figure 17 :** Résultats de Hodge test de la souche 1253

- **Carba-NP test modifié**

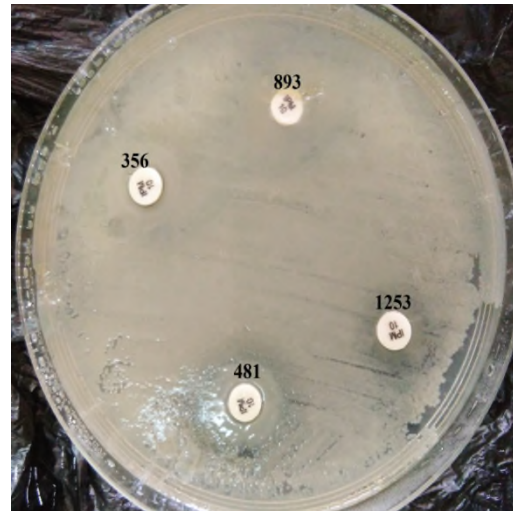
Ce test a été négatif pour 06 souches de *Pseudomonas aeruginosa*. L'absence de virage de la couleur vers l'orange montre que les souches ne produisent pas une carbapénémase.



**Figure 20:** Résultats de carba-NP test modifié

- **Test CIMm (The Modified Carbapenem Inactivation Method)**

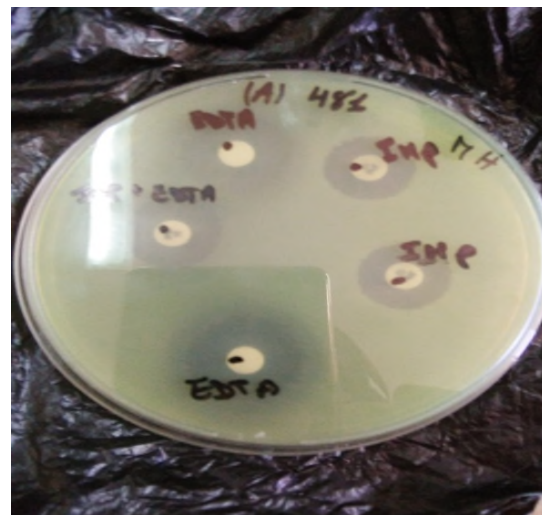
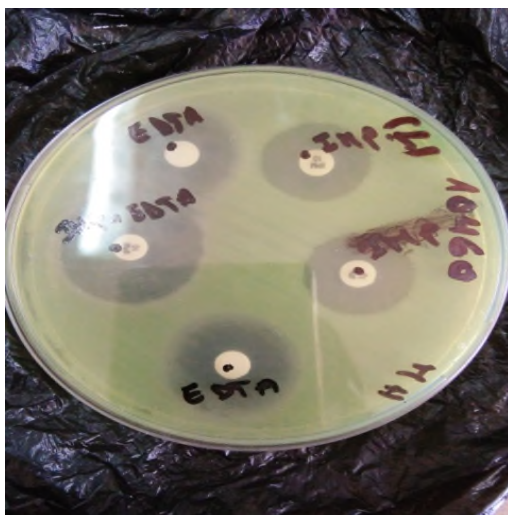
Ce test a été négatif pour toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* probablement productrice d'une carbapénèmase.



**Figure 21** : Résultats de test CIM des souches résistantes à l'imipénème

- **Test d'inhibition à l'EDTA**

Les souches testées n'ont pas montré un accroissement de la zone autour du disque contenant l'IPM + EDTA, et aucune image de synergie n'a été observée. Les souches testées ne possèdent pas de métallo- $\beta$ -lactamases conférant leur résistance à l'imipénème.



**Figure 18** : Résultat du test

EDTA-disque de synergie

**figure 19** : résultats de test

des disques combinés

**Tableau IV :** Représentation des phénotypes de résistances

L'ensemble des souches présentant le phénotype AmpC +perte OprD présente une résistance à la ceftazidime et à l'imipénème, et la souche présentant le phénotype AmpC montre une résistance à la ceftazidime.

	CAZ	IMP	DD-Test	Hodge test modifié	Carba-NP test	Test d'EDTA	Test de CIMm	Phénotypes probables
<b>206</b>	R	S (20)	-	-	-	-		AmpC
<b>214</b>	R	S (19)	-	-	-	-		AmpC
<b>258</b>	R	S (21)	-	-	-	-		AmpC
<b>481</b>	R	I (16)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD
<b>569</b>	R	S (20)	-	-	-	-		AmpC
<b>893</b>	I (17)	R (11)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD
<b>1253</b>	I (16)	I (17)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD
<b>1884</b>	R	S (27)	-	-	-	-		AmpC
<b>3470</b>	R	S (21)	-	-	-	-		AmpC
<b>6796</b>	R	R(11)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD
<b>7576</b>	R	S (21)	-	-	-	-		AmpC
<b>10460</b>	R	I (17)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD
<b>10784</b>	R	S (20)	-	-	-	-		AmpC
<b>11934</b>	R	S (30)	-	-	-	-		AmpC
<b>K164</b>	R	S (22)	-	-	-	-		AmpC
<b>K356</b>	R	I (18)	-	-	-	-	-	AmpC + perte OprD

# Discussion



*P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales et communautaires et possède de nombreux facteurs de virulence et de résistance naturelle à la majorité des antibiotiques (Mesaros, 2007). De plus, l'émergence récente de souches multirésistantes, voire "totorésistantes", cumulant tout un ensemble de mécanismes, constitue un sujet d'inquiétude en milieu hospitalier car le traitement des infections dues aux souches de *P. aeruginosa* multi résistantes aux antibiotiques est rendu de plus en plus difficile (Salou *et al.*, 2014).

Au cours de notre étude, 18 souches de *P. aeruginosa* ont été collectées au niveau de quatre laboratoires d'analyses médicales de et d'hôpital d'Amizour de la willaya de Béjaia. Ces souches ont été isolées à partir de prélèvements urinaires (15/18 soit 83%) et de pus (3/18 soit 17 %). Au Maroc, une étude a rapporté un taux de 26.31 % de souches isolées à partir de prélèvements urinaires et de 28.07% à partir de prélèvements de pus et 54.38 % à partir d'autres prélèvements (Gildas Comlan zohoun *et al.*, 2013).

Les souches de *P. aeruginosa* ont été isolées à partir des patients adultes dans 67% des cas (12/18) et dans 33% (6/18) chez des enfants avec une dominance féminine de 56%.

Dans notre étude, le nombre de souches résistantes à la céftazidime et à l'imipénème était 16/18 (soit 88.88%) et 6/18 (soit 33.33%) respectivement. Liazid *et al* (2011) ont rapporté un taux de résistance de 2/28 (soit 7.14%) et 1/28 (soit 3.15%) à la céftazidime et à l'imipénème chez des souches de *P. aeruginosa* isolées à Tlemcen à partir de divers types de prélèvements. D'autres études menées en Iran et en Cote D'Ivoire rapportent des taux de résistances à la céftazidime de 55% et de 16.83%, et pour l'imipénème de 49% et de 11.54% respectivement (Nouri *et al.*, 2016 ; Nieko Dangui Makaya *et al.*, 2015 ).

Dans notre étude, les souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes à la ticarcilline-acide clavulanique(TCC) avec un taux de 94.44% (17/18), ce taux est relativement proche de celui rapporté en Iran qui était de 73% en 2014 (Nouri *et al.*, 2016), cette résistance est probablement due à un mécanisme non enzymatique et semble être liée à l'association d'une faible perméabilité de la membrane externe et d'une hyperexpression du système d'efflux. Ces mécanismes confèrent souvent un faible niveau de résistance aux  $\beta$ -lactamines anti-Pseudomonas autre que l'imipénème et touchent essentiellement la ticarcilline puis l'aztréonam (Cavallo *et al.*, 1998).

La résistance des souches de *P. aeruginosa* à la céftazidime peut être due à une hyperproduction de l'AmpC. Malgré que le DD-Test révèle l'absence de synergie, l'absence

de production de BLSE pourrait être confirmée par l'addition de la cloxacilline à la gélose Mueller Hinton à une concentration 500mg/L afin d'inhiber la céphalosporinase chromosomique. D'autres travaux ont rapporté la production de 5 types de BLSE de classe A chez les souches de *P. aeruginosa*, il s'agit des types TEM, SHV, PER, VEB et GES. Il existe actuellement 9 variantes connues de BLSE de type GES, à ce jour, quatre de ces variantes ont été identifiées chez *P.aeruginosa* (GES-1, -2, -8 et -9) (Wang *et al.*, 2006).

L'ensemble des résultats des tests phénotypiques réalisés dans notre étude (Hodge test, test de CIM, le carba NP test et le test d'inhibition à l'EDTA) ont permis de conclure que les souches *P. aeruginosa* ne produisent pas de carbapénèmases et que la résistance à l'imipénème peut être due à d'autres mécanismes de résistance qui sont la perte ou la modification des porines OprD ou bien à l'activation de la pompe à efflux (Gildas Comlan Zohoun *et al.*, 2013).

En effet, des études précédentes réalisées à l'Est d'Algérie entre 2012-2013 ont montré que la résistance des souches *P. aeruginosa* était due à l'hyper-expression de la pompe d'efflux ou la perte de porine membranaire (Meradji *et al.*, 2015).

Cependant, en Tunisie, des souches isolées entre 2008-2011 étaient résistantes à l'imipénème par production de carbapénémase de type M $\beta$ L chez 58% des souches (Ben Abdallah *et al.*, 2008). Actuellement, l'émergence de carbapénèmases M $\beta$ L de types NDM-1 et ces variantes sont connues à l'échelle mondiale. Le premier NDM -1 décrit chez *Pseudomonas* était isolé en Serbie (Khan *et al.*, 2017). En Algérie, à notre connaissance, aucun cas de souches de *Pseudomonas* productrices de NDM n'a été détecté.

Le taux de résistance aux fluoroquinolones enregistré dans notre étude, était de 11.11% (02 /18). Touati et al ont rapporté un taux plus élevé (34.29 %) de résistance à la ciprofloxacine chez des souches isolées entre 2010 et 2011 à Annaba (Touati *et al.*, 2013). Une autre étude réalisée chez les souches isolées à Guelma entre (2007/2011) a rapporté un taux de résistance à la ciprofloxacine de 59% (Bentroki *et al.*, 2011)

Une précédente étude réalisée sur 100 souches de *P. aeruginosa* isolées en Iran a décrit une résistance à la ciprofloxacine chez 64 souches qui est due à des mutations dans le gène codant pour la sous-unité GyrA de l'ADN gyrase. Pour certaines souches des mutations additionnelles ont été détectées au niveau du gène codant pour la sous unité ParC. Les substitutions en acide aminé les plus fréquemment rencontrées étaient Thr-83 au niveau de la sous unité *gyrA* et Ala-88 au niveau de la sous unité *parC* (Nouri *et al.*, 2016).



La gentamycine et la tobramycine restent les antibiotiques les plus actifs sur les souches de *P. aerogenosa* étudiées avec une sensibilité de 94.44%. Une autre étude a rapporté une sensibilité moindre de 50% et de 43% à la gentamycine et à la tobramycine respectivement chez des souches isolées aux Etats Unis à partir de divers prélèvements (Kang *et al.*, 2017). Une étude menée en Cote D'Ivoire entre (2012-2015) a décrit un taux de résistance à la tobramycine de 18.75% (Nieko Dangui Makaya *et al.*, 2015).

En Algérie, selon le 16<sup>ème</sup> rapport du réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (AARN) publié en 2017, les souches de *P. aeruginosa* isolées au niveau des hôpitaux et à titre externe sur tout le territoire national en 2015 présentaient une résistance de 34.04% pour la TCC, 22.83% pour la PI, de 15.40% pour la CAZ, de 20.17% pour l'ATM, de 16.35% pour la GEN, 12.12% pour la TOB, 14.27% pour la CIP (Rahal, 2017).

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est un enjeu majeur de santé publique et particulièrement préoccupante lorsqu'elle touche l'imipénème, molécule de choix pour le traitement des infections à bactéries multi résistantes.

A la lumière des résultats obtenus au cours de notre étude, il en ressort que les femmes sont relativement les plus exposées aux infections causées par *P. aeruginosa* avec 56% comparé aux hommes 44%.

L'antibiogramme a montré une résistance des souches à : céftazidime 88.88%, à l'imipénème 33.33%, à la pépiracilline, à la ciprofloxacine 11.11%, à la gentamycine 5.55% et à la tobramycine 5.55%. Et selon les résultats des tests phénotypiques, la résistance à l'imipénème est probablement due à la perte ou à la modification de la porine OprD et/ou à la surexpression du gène codant pour la pompe d'efflux.

D'après cette étude, il faut noter que les laboratoires d'analyses médicales doivent utiliser le maximum de tests et de milieux sélectifs pour une meilleure identification afin d'établir une antibiothérapie adéquate.

La détermination des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -latamines peut être un bon outil dans l'orientation vers la détection de la production de BLSE ou de carbapénémases et le type associé car ils sont généralement simples, rapides et peu coûteux. Ils pourraient donc être utilisés en routine dans les laboratoires d'analyses médicales permettant ainsi la détection rapide de souches multi résistantes.

Néanmoins cette étude n'est pas exhaustive, vu le nombre limité d'échantillons, ainsi que les méthodes d'analyses requises pour ce genre d'étude. Aussi, d'autres tests seront nécessaires :

- La caractérisation moléculaire pour confirmer les tests phénotypiques.
- L'utilisation de la cloxacilline pour la détection de la production de BLSE.
- L'application des techniques de typage moléculaires (MLST, PFGE) afin de détecter des cas épidémiques de souches de *Pseudomonas* résistantes aux antibiotiques.
- Elargir la zone d'étude et augmenter le nombre d'échantillons pour pouvoir ainsi mener une étude statistique de la prévalence des souches multi résistantes.

# Références bibliographiques

## Les références

### A

**Askoura, M., Mattawa, W., Abujamel, T., Taher I.** (2011). Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *Libyan J Med* 2011, 6: 5870.

### B

**Bahmani, M., Rafieian-Kopaei, M., Hassanzadazar, H., Taherikalani M.** (2016). Pseudomoniasis phytotherapy: a review on most important Iranian medicinal plants effective on *Pseudomonas aeruginosa*. *IRAN. J. MICROBIOL.* Volume 8 Number 5, 347-350  
<http://ijm.tums.ac.ir>.

**Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J-M., Gharout –Sait, A., Touati, A., Rolain J-M.** (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbe and New Infect.* 7:89-93.

**Balázs R.** (2017). Interactions between Neutrophils and *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis. *Pathogens*, 6, 10; doi:10.3390.[www.mdpi.com/journal/pathogens](http://www.mdpi.com/journal/pathogens).

**Behera, B., Mathur, P., Das, A., Kapil, A., Sharma V.** (2008). An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-betalactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 26 (3): 233-37.

**Ben Abdallah, H., Moomen, S., Mastouri, M.** (2008). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région Monastir Susceptibility patterns of *pseudomonas aeruginosa* stains isolated in the monastir region Tunisia. *Medecine et Maladies Infectieuses.* 38(10) :554-556.

**Ben Haj Khalifa, A., Moissenet, D., Vu Thien, H., Khedher M.** (2011). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations, *Ann Biol Clin* ; 69 (4) : 393-403.

**Bentrok, AA., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., Bensouilah, T.** (2012). Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). *Ann Biol Clin* 2012 ; 70 (6) : 666-8.

**Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., and Piddock, L. J.** (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 42–51.

**Bush, K., Jacoby, GA., Medeiros, AA., (1995).** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 39:1211-1233.

## C

**CA-SFM.** (2015). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

**Cavallo J.D., De Mouy.D., Fabre R., Garrabe E., Armengaud M., 1998.** *Pseudomonas aeruginosa* en pratique de ville : étude AFORCOPIBIO 1995-1996. *Méd mal infect.* 28: 258-259.

**Chalhoub, H., Pletzer D., Weingart, H., Braun Y., Tunney, M.M., Elborn, J. S., Rodriguez-Villalobos, H., Plésiat P., Kahl, B.C., Denis, O., Winterhalter, M., Tulkens P.M., Van Bambeke F.** (2017). Mechanisms of intrinsic resistance and acquired susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients to temocillin, a revived antibiotic. *Scientific Reports.* [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports).

**Chambers, JR., Sauer K.** (2013) The MerR-Like Regulator BrlR Impairs *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Tolerance to Colistin by Repressing PhoPQ. *Journal of Bacteriology* 195 (20), p. 4678–468.

**CLSI** (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015).

## D

**Davies, J., and Davies, D.** (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 417–433.

**Doi, Y., Arakawa, Y.** (2007). 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. Clin Infect Dis.45(1):88-94.

**Drissi, M., Baba Ahmed., Z, Dehecq., B, Bkour R., Pésiat P., Hocquet D.** (2008). Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* : première étude en Algérie. Médecine et Maladies infectieuses. 38: 187-191.

## F

**Fernández-García, L., Blasco, L., Lopez, M., Bou, G., García-Contreras, R., Wood, T.** (2016). Toxin-antitoxin systems in clinical pathogens. Toxins (Basel).8:227.

**Forozesh Fard, M., Irajian, G., Moslehi Takantape, Z., Fazeli, H., Salehi, M., Rezania.**(2012). Drug resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients at isfahan al zahra hospital, Iran (2009-2010).Iranian journal of Microbiologie,4(2), p94-97.

## G

**Georgescu, M., Gheorghe, I., Curutiu, C., Lazar, V., Bleotu, C., Chifiriuc MC.** (2016). Virulence and resistance features of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from chronic leg ulcers. BMC Infectious Diseases, 16(Suppl 1):92.

**Ghafir Y, Daube G.** (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Ann. Méd. Vét., **151**, 79-100.

**Gildas Comlan Zohoun A, Mocket D, El Hamzaoui S.** (2013). Résistance à l'imipénème par production de métallo B-lactamases par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'Hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Ann Biol Clin ; 71 (1) : 27-30.

**Guendouze, A., Plener, L., Bzdrenga, J., Jacquet, P., Rémy, B., Elias, M., Lavigne, JP., Daudé, D., Chabrière E.** (2017).Effect of QuorumQuenching Lactonase in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and Comparison with Quorum Sensing Inhibitors; Volume 8. Article 227.Frontiers in Microbiology | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org).

## H

**Harshey, RM** .(2003). Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Annu Rev Microbiol* 57: 249–273.

**Hong, D. J., Bae, I. K., Jang, I. H., Jeong, S. H., Kang, H. K., and Lee, K.** (2015). Epidemiology and characteristics of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Chemother.* 47, 81–97.

## **J**

**Juan, C., Macia, M. D., Gutierrez, O., Vidal, C., Perez, J. L., and Oliver, A.** (2005). Molecular mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 4733–4738.

## **K**

**Kang, AD., Smith, PK., Eliopoulos, GM., Berg, AH., McCoy, C., Kirby J.E.** (2017). invitro apramycin activity against multidrug-resistant acinetobacter baumannii et *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 88 (2): 188-191.

**Kao, C. Y., Chen, S. S., Hung, K. H., Wu, H. M., Hsueh, P. R., Yan, J. J., et al.** (2016). Overproduction of active efflux pump and variations of OprD dominate in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with bloodstream infections in Taiwan. *BMC Microbiol.* 16:107.

**Khaledi, A., Schniederjans, M., Pohl, S., Rainer, R., Bodenhofer, U., Xia, B.** (2016). Transcriptome profiling of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60, 4722–4733.

**Khan, A U., Maryam, L., Zarrilli, R.** (2017). Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase (NDM): a threat to public health. 1. *BMC Microbiology* 17:101. DOI 10.1186/s12866-017-1012-8.

## **L**

**Le Bourgeois M, Vrielynck S.** (2005). Infection bronchopulmonaire dans la mucoviscidose. *mt pédiatrie*, vol. 8, n° 3, 175.



**Lee, K., Kim, Ck., Yong, D., Jeong, SH., Yum, JH., Seo, YH., Docquier, JD., Chong y.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods*. 83: 149-152.

**Liaïd A. (2012).** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen, P40-66.

**Lister, PD, Wolter, DJ, Hanson ND.** (2009). Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* (2009): Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, Vol. 22, No. 4 p. 582–610.

## M

**Mattick, J.S.** (2002). Type IV pili and twitching motility. *Annu Rev Microbiol* **56**: 289–314.

**Meletis, G., and Bagkeri, M.** (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: Multi-Drug-Resistance Development and Treatment. *Infection Control*. P 56.

**Mellouk, FZ ., Bakour, S ., Meradji, S ., Al-Bayssari, C ., Bentakouk, MC ., Zouyed, F ., Djahoudi, A ., Boutefnouchet, N ., Rolain JM.** (2017). First Detection of VIM-4-Producing *Pseudomonas aeruginosa* and OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Northeastern (Annaba, Skikda) Algeria. *Microb Drug Resist*, Apr; 23(3):335-344.

**Meradji, S., Barguigua, A., Zerouali, K., Mazouz, D., Chettibi, C., Naima Elmdaghri, Timinouni, N.** Epidemiology of carbapenem non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Eastern Algeria. Meradji et al. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (2015) 4:27.

**Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., Van Eldere, J., Glupczynsk, Y., Van Laethem, Y., Jacobs, F., Lebecque, P., Malfroot, A., Tulkens, P.M., Van, Bambeke F.** (2007). *Pseudomonas aeruginosa* :résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire 1. *Clinical microbiology and infection*. 126, 8 : 305-316.

**Moradali, MF., Ghods, S., Rehm, B.H.A.** (2017). *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle A paradigm for adaptation, survival and persistence. *Frontiers in cellular and infection in Microbiologie*, vol.7.artile39. p1-20. [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org).

## N

**Naas T.,** (2003). Phénotype de résistance aux antibiotiques de la souche de *Acinetobacter baumannii* productrice de la  $\beta$ -lactamase VEB-1. *Journal of clinical microbiology*. 41:3542-7.

**Nieko Dangui Makaya, PN., Guessennd, NG0., Kayath, CA., Kossia Gba, K., Valérie Gbonon, V., Assavon Nguetta1, SM., Dosso, M.** (2017). Emergence of Antibiotic Resistance and Correlation with the Efflux Pump in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from

**Nouri ,R., Ahangarzadeh Rezaee, M., Hasani, A., Aghazadeh, M., Asgharzadeh, M.** (2016). The role of *gyrA* and *parC* mutations in fluoroquinolones-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran. *Brazilian Journal of Microbiol.* 47(4):925-930.

## O

**Overturf GD.** (2010). Carbapenemases A Brief Review for Pediatric Infectious Disease Specialists. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 29(1) P 68-70. [www.pidj.com](http://www.pidj.com).

## P

**Pierce, VM., Simmer, PJ., Lonsway, DR., Roe-Carpenter, DE., Johnson, K., Brasso, WB., Bobenchik, AM., Lockett, ZC., Charnot-Katsikas, A., Ferraro, MJ., Richard, B., Thomson, RB., Stephen, G., Jenkins, SG., Limbago, BM., Dasi S.** The Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among *Enterobacteriaceae*. *American Society for Microbiology*, P6-18.

**Potron, A., Poirel, L., and Nordmann, P.** (2015). Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents* 45, 568–585.

## R

**RAHAL KBRT-MHBMMFKBAAA, 16<sup>ème</sup> rapport de Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. (2017).**

## **S**

**Salou, M., Dossim, S., Ekouevi, DK., Nyasenu, T., Lack, F., Loko, K., Tigossou, S., Prince-David, M., Dagnra, A. Y. (2014).** Aspects phenotypiques de la resistance aux  $\beta$ -Lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* Isolees au laboratoire de bacteriologie medicale Du chu sylvanus olympio (chu so) de lome, togo. J. Rech. Sci. Univ. Lomé (togo), 16(1) : 157-162.

**Sun, J., Deng, Z., and Yan, A. (2014).** Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. Biochem. Biophys. Res. Commun. 453, 254–267.

## **T**

**Touati , M., Diene, SM., Dekhil, M., Djahoudi, A., Racherache, A, Rolain JM. (2013).** Dissemination of a Class I Integron Carrying VIM-2 Carbapenemasein *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from a Hospital Intensive Care Unit in Annaba, Algeria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57(5) p. 2426–2427, [aac.asm.org](http://aac.asm.org).

## **W**

**Wang, C., Cai, P., Chang, D., Mi, Z., (2006).** A *Pseudomonas aeruginosa* isolate producing the GES-5 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *J. Antimicrob. Chemother.* 57 (6): 1261-1262.

## **Y**

**Yeterian E., (2010).** Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Université Strasbourg Thèse de doctorat p.11.

**Yong, D., Lee, K., Yum, JH., Shin, HB., Rossolini, GM., chong Y. 2002.** Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* 40: 3798-801.

Annaxe

## Annexe I

### Composition des milieux de culture (g/l)

#### Gélose nutritive :

Extrait de viande de bœuf.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Peptone.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

**PH 7,2-7,4**

#### Milieu Hektoen :

Protéose peptone.....	12g
Extrait de levure.....	3g
Lactose.....	12g
Saccharose.....	12g
Salicine.....	2g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5g
Sels biliaries.....	9g
Fuchsine acide.....	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g

**PH : 7.3**

#### Milieu Muller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf.....	300g
---------------------------------	------



Hydrolysate de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Gélose.....	10g

**PH : 7.4**

### **Gélose Mac Conkey :**

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de viande.....	3g
Lactose.....	10g
Mélange de sels biliaires.....	1,5g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	0,03g

**PH : 7,3**

### **Milieu citrate de SIMMONS**

Sulfate de magnésium.....	0.2g
Phosphate monoammonique .....	1g
Phosphate bipotassique.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate de sodium.....	2g
Bleu de bromothymol.....	0.08g
Agar.....	15g

**PH: 7**



### **Milieu King A:**

Bacto-peptone (difco).....	20g
Agar.....	15g
Glycérol cp.....	10g
SO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> anhydre.....	10g
Eau distillée 1000ml	

**PH =7.2**

### **Milieu King B:**

Potéose-peptone n°3 (difco).....	20g
Agar.....	15g
Glycérol cp.....	10g
PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> anhydre.....	1.5g
SO <sub>4</sub> Mg 7H <sub>2</sub> O.....	1.5g
Eau distillée 1000ml	

**PH=7.2**

### **Gélose KIA**

Extrait de viande de bœuf.....	..03g
Extrait de levure.....	..02g
Peptone.....	..20g
Chlorure de sodium.....	..05g
Lactose.....	..10g
Glucose.....	..01g
Citrate ferrique thiosulfates.....	..03g



Thiosulfate de sodium.....	03g
Rouge de phénol.....	0.25g
Gélose.....	12g

### **Gélose BCP**

Peptone.....	5g
Lactose .....	10g
Extrait de viande.....	3g
Pourpre de bromocrésol.....	10g
Agar .....	15g

**PH : 7**

### **Bouillon Mueller Hinton**

Extrait de viande.....	2,0g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon soluble.....	1,5g

**PH** du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$ .



## Annexe II

**Tableau I :** Représentation des données collectées

Code	Date	Nature de prélèvement	Age	Sexe	Laboratoire
<b>206</b>	10-01-2017	Pus	Adulte	F	Hôpital d'Amizour
<b>214</b>	11-01-2017	Pus	Adulte	M	Hôpital d'Amizour
<b>258</b>	19-04-2017	Urine	Adulte	F	Dr Djama
<b>481</b>	09-04-2017	Pus	Enfant	F	Dr Lalaoui
<b>569</b>	09-02-2017	Urine	Enfant	M	Dr Kebbiche
<b>893</b>	15-03-2017	Urine	Adulte	M	Dr Lalaoui
<b>1253</b>	14-02-2017	Urine	Enfant	F	Dr Kebbiche
<b>1884</b>	29-03-2017	Urine	Adulte	F	Dr Lalaoui
<b>1910</b>	04-03-2017	Urine	Enfant	M	Dr Kebbiche
<b>3470</b>	26-04-2017	Urine	Adulte	F	Dr Djama
<b>6796</b>	02-03-2017	Urine	Adulte	F	Dr Lalaoui
<b>7576</b>	25-03-2017	Urine	Enfant	F	Dr Lalaoui
<b>10460</b>	04-03-2017	Urine	Adulte	F	Dr Lalaoui
<b>10760</b>	15-04-2017	Urine	Enfant	M	Dr Lalaoui
<b>11934</b>	02-04-2017	Urine	Adulte	F	Dr Lalaoui
<b>12130</b>	16-04-2017	Urine	Adulte	M	Hôpital d'Amizour
<b>K164</b>	28-02-2017	Urine	Adulte	M	Dr Moualak
<b>K356</b>	24-04-2017	Urine	Adulte	M	Dr Moualak

## Annexe III

**Tableau II** : diamètres (mm) des zones édités par le CLSI, 2015 pour *Pseudomonas aeruginosa*

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testées	Signe	Charge des disques	Diamètre critiques mm		
				S	I	R
<b>Beta-lactamines</b>	Piperacillin	PI	100µg	≥21	15-20	≤14
	Ticarcillin-clavulanate	TCC	75/10µg	≥24	16-23	≤15
	Ceftazidime	CAZ	30µg	≥18	15-17	≤14
	Imipenem	IPM	10µg	≥19	16-18	≤15
	Aztreonam	ATM	30µg	≥22	16-21	≤15
	Meropenem	MEM	10µg	≥19	16-18	≤15
<b>Aminoglycosides</b>	Gentamicin	GN	10µg	≥15	13-14	≤12
	Tobramycin	TOB	10µg	≥15	13-14	≤12
	Amikacin	AK	30µg	≥17	15-16	≤14
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacin	CIP	5µg	≥21	16-20	≤15

## **Annexe IV**

### **Préparation de la solution A**

La solution A (solution contenant un indicateur de PH) est préparé comme suit :

1. Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5 % poids/volume.
2. Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
3. Ajouter au mélange 180 $\mu$ l d'une solution de ZnSO<sub>4</sub> mM pour obtenir une concentration finale de ZnSO<sub>4</sub> à 0.1mM.
4. Ajuster le PH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

## Annexe V

**Tableau III** : Résultats de l'identification par mini galerie biochimique

Codes	Citrate de Simmons	TSI	H <sub>2</sub> S	Catalase	Oxydase	King A	King B
206	+	-	-	+	+	+	+
214	+	-	-	+	+	+	+
258	+	-	-	+	+	+	+
569	+	-	-	+	+	+	+
893	+	-	-	+	+	+	+
1253	+	-	-	+	+	+	+
1884	+	-	-	+	+	+	+
1910	+	-	-	+	+	+	+
3470	+	-	-	+	+	+	+
6796	+	-	-	+	+	+	+
7576	+	-	-	+	+	+	+
10460	+	-	-	+	+	+	+
10784	+	-	-	+	+	+	+
11934	+	-	-	+	+	+	+
11934	+	-	-	+	+	+	+
12130	+	-	-	+	+	+	+
K164	+	-	-	+	+	+	+
K356	+	-	-	+	+	+	+

## Annexe VI

**Tableau IV :** Résultat de l'antibiogramme des souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Code	CAZ	TCC	PI	IPM	CIP	GN	ATM	TOB	AK
206	R(6)	R(6)	S(24)	S(20)	S(34)	S(18)	I(20)	S(26)	NT
214	R(6)	R(13)	S(25)	S(19)	S(35)	S(18)	S(24)	S(27)	NT
258	R(6)	R(14)	R(6)	S(21)	R(6)	S(19)	S(26)	S(28)	NT
481	R(6)	S(24)	S(31)	I (16)	S(38)	S(15)	S(30)	S(28)	NT
569	R(6)	R(10)	S(22)	S(20)	S(39)	S(18)	S(35)	S(35)	NT
893	I(17)	I (16)	S(25)	R(11)	S(25)	R(6)	S(25)	R(12)	NT
1253	I(16)	R(6)	I(20)	I (17)	S(25)	S(19)	NT	S(28)	S(29)
1884	R(6)	I (17)	S(27)	S(27)	S(35)	S(22)	NT	S 29)	S(30)
1910	S(21)	I (18)	S(24)	S(23)	S(32)	S(21)	NT	S(28)	S(30)
3470	R(6)	R(14)	S(26)	S(21)	S(38)	S(19)	NT	S(26)	S(27)
6796	R(6)	R(15)	R(6)	R(11)	R(14)	S(23)	NT	S(28)	S(30)
7576	R(6)	I (18)	S(24)	S(21)	S(37)	I(13)	NT	S(22)	S(27)
10460	R(6)	R(12)	S(25)	I (17)	S(31)	S(28)	NT	S(28)	S(28)
10784	R(6)	R(15)	S(27)	S(20)	S(38)	S(28)	NT	S(31)	S(28)
11934	R(6)	R(11)	S(25)	S(30)	S(36)	S(28)	NT	S(28)	S(30)
K164	R(6)	R (9)	I(18)	S(22)	S(32)	S(29)	NT	S(28)	S(28)
K356	R(6)	R(12)	S(24)	I (18)	S(36)	S(32)	NT	S(34)	S(34)
12130	S(18)	I(16)	S(24)	S(22)	S(38)	S(17)	S(28)	S(22)	S(23)

**R:** Résistante

**I :** Intermédiaire

**S :** Sensible

**NT :** Non Test

## Résumé

La résistance aux antibiotiques chez *P.aeruginosa* est un problème majeur de santé et particulièrement la résistance aux carbapénèmes. Cette résistance est un problème récent et croissant dans de nombreux pays à travers le monde.

Un total de 18 souches *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolés de divers prélèvements pathologiques à partir des laboratoires d'analyses médicales et l'hôpital d'amizour de Béjaia. L'étude de la résistance *in vitro* de ces germes aux antibiotiques a révélé que les souches *Pseudomonas aeruginosa* présentent des taux de résistance aux antibiotiques : ceftazidime , imipenème, gentamycine, tobramycine, ciprofloxacine amikacine de 88.88%, 33.33%, 5.56%, 5.56%, 10% respectivement.

**Les mots clés :** résistance, antibiotiques, *Pseudomonas aeruginosa*, réanimation, carbapénèmes

## Abstract

Antibiotics resistance in *P. aeruginosa* is a major health problem, especially resistance to carbapenems. This resistance is a recent and increasing problem in many countries worldwide.

A total of 18 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from various pathological specimen from medical analysis laboratories and hospital of Amizour. The study of resistance of these organisms to antibiotics revealed that strains of *Pseudomonas aeruginosa* have resistance to : ceftazidim, imipenem, gentamycin, tobramycin, ciprofloxacin, amikacin, of 88.88%, 33.33%, 5.56%, 5.56%, 10% respectively.

**Keywords:** resistance, antibiotics, *Pseudomonas aeruginosa*, intensive care unit, carbapenems.

## ملخص

المقاومة للمضادات الحيوية في *P. الزنجارية* هي مشكلة صحية كبيرة، وخاصة مقاومة للكاربابينيمات هذه المقاومة هي مشكلة جديدة ومتنامية في العديد من البلدان في جميع أنحاء العالم.

وكان ما مجموعه 18 سلالات الزائفة الزنجارية معزولة من مختلف العينات المرضية من معامل التحاليل الطبية والمستشفيات من أميزور. دراسة مقاومة للمضادات الحيوية من هذه الكائنات وكشف أن سلالات الزائفة الزنجارية المقاومة للوجود: السيفنازيديم، الإيميبينيم، الجنتاميسين، توبراميسين، سيبروفلوكساسين، الأميكاسين، من 88.88٪، 33.33٪، 5.56٪، 5.56٪، 10٪. على التوالي.

**الكلمات الرئيسية:** المقاومة والمضادات الحيوية والزائفة الزنجارية، الإنعاش، الكاربابينيمات.