

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

ANNEE: 2013

THESE N°:06

EFFET DU REPIQUAGE DE *PSEUDOMONAS*  
*AERUGINOSA* SUR LES CARACTÈRES  
MORPHOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET  
SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

THÈSE

*Présentée et soutenue publiquement le:.....*

PAR

*Mlle. SOLBI Soukaina*

*Née le 19 Mai 1988 à Mechraa belksiri*

pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Repiquage, *Pseudomonas aeruginosa*, pureté, viabilité.

MEMBRES DE JURY

**Mr. M. ZOUHDI**

Professeur de Microbiologie

**PRESIDENT**

**Mme. S. EL HAMZAOUI**

Professeur de Microbiologie

**RAPPORTEUR**

**Mme. S. TELLAL**

Professeur de Biochimie et Biochimie clinique

**JUGES**

**Mme. F.JABOURIK**

Professeur de Pédiatrie

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما

علمتنا إنك أنت العليم

الحكيم

سورة البقرة: الآية:

22

صِدْقَةَ اللَّهِ الْعَظِيمَةَ



**SITE MOHAMMED V- SOUISSI  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

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

ADMINISTRATION :

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

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

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

Mai et Octobre 1981

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

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali\* Oto-Rhino-Laryngologie  
12. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire

13. Pr. BENSOUDA Mohamed  
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif  
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Anatomie  
Chirurgie Thoracique  
Physiologie

Novembre 1983

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

Pneumo-ptisiologie  
Pédiatrie  
Neurochirurgie  
Rhumatologie  
Cardiologie

Décembre 1984

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

Neurochirurgie  
Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie -Réanimation  
Immuno-Hématologie  
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

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

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

Janvier, Février et Décembre 1987

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

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

Décembre 1988

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

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

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

Février Avril Juillet et Décembre 1991

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

79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH  
80. Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie  
Chimie thérapeutique

#### Décembre 1992

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

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

#### Mars 1994

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

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

### Mars 1994

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

### Mars 1995

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

### Décembre 1996

158. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
159. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
160. Pr. BELMAHI Amin	Chirurgie réparatrice et plastique
161. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
162. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
163. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
164. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
165. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie

166. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid  
167. Pr. MOHAMMADI Mohamed  
168. Pr. MOULINE Soumaya  
169. Pr. OUADGHIRI Mohamed  
170. Pr. OUZEDDOUN Naima  
171. Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Novembre 1997

172. Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
173. Pr. BEN AMAR Abdesselem  
174. Pr. BEN SLIMANE Lounis  
175. Pr. BIROUK Nazha  
176. Pr. BOULAICH Mohamed  
177. Pr. CHAOUIR Souad\*  
178. Pr. DERRAZ Said  
179. Pr. ERREIMI Naima  
180. Pr. FELLAT Nadia  
181. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra  
182. Pr. HAIMEUR Charki\*  
183. Pr. KANOUNI NAWAL  
184. Pr. KOUTANI Abdellatif  
185. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
186. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
187. Pr. NAZI M'barek\*  
188. Pr. OUAHABI Hamid\*  
189. Pr. SAFI Lahcen\*  
190. Pr. TAOUFIQ Jallal  
191. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

192. Pr. AFIFI RAJAA  
193. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali\*  
194. Pr. ALOUANE Mohammed\*  
195. Pr. BENOMAR ALI  
196. Pr. BOUGTAB Abdesslam  
197. Pr. ER RIHANI Hassan  
198. Pr. EZZAITOUNI Fatima  
199. Pr. KABBAJ Najat  
200. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Novembre 1998

201. Pr. BENKIRANE Majid\*  
202. Pr. KHATOURI ALI\*  
203. Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumo-phtisiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Neurologie  
O.RL.  
Radiologie  
Neurochirurgie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie Réanimation  
Physiologie  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Neurologie  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie  
Pneumo-phtisiologie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Neurologie  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

204. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
205. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
206. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
207. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
208. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
209. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
210. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
211. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
212. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
213. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
214. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
215. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
216. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
217. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
218. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
219. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
220. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
221. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
222. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

223. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
224. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
225. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
226. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
227. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
228. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
229. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
230. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
231. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
232. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
233. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
234. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
235. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
236. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
237. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
238. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
239. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
240. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
241. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
242. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

243. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
244. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
245. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
246. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
247. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
248. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
249. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
250. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
251. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
252. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
253. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
254. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
255. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
256. Pr. BOUCHIKHI IDRISSI Med Larbi	Anatomie
257. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
258. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
259. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
260. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
261. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
262. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
263. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
264. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
265. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
266. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
267. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
268. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
269. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
270. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
271. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
272. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
273. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
274. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
275. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
276. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
277. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
278. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
279. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
280. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
281. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
282. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
283. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
284. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
285. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale

286. Pr. SEFIANI Yasser  
287. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia  
288. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie  
Urologie

Décembre 2002

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

## **PROFESSEURS AGREGES :**

### Janvier 2004

329. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
330. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
331. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
332. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
333. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
334. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
335. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
336. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
337. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
338. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
339. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
340. Pr. EL HANCI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
341. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
342. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
343. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
344. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
345. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
346. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
347. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
348. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
349. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
350. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
351. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
352. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
353. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
354. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
355. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie
356. <b><u>Janvier 2005</u></b>	
357. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
358. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
359. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
360. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
361. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
362. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
363. Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
364. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
365. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
366. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
367. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
368. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
369. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
370. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
371. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
372. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique

373. Pr. EL HAMZAOUI Sakina  
 374. Pr. HAJJI Leila  
 375. Pr. HESSISSEN Leila  
 376. Pr. JIDAL Mohamed\*  
 377. Pr. KARIM Abdelouahed  
 378. Pr. KENDOUSI Mohamed\*  
 379. Pr. LAAROUSSI Mohamed  
 380. Pr. LYAGOUBI Mohammed  
 381. Pr. NIAMANE Radouane\*  
 382. Pr. RAGALA Abdelhak  
 383. Pr. SBIHI Souad  
 384. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  
 385. Pr. ZERAIDI Najja

**AVRIL 2006**

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
 425. Pr. AKJOUJ Said\*  
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra  
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
 428. Pr. BENCHEIKH Razika  
 429. Pr. BIYI Abdelhamid\*  
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes  
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
 434. Pr. DOGHMI Nawal  
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa  
 436. Pr. FELLAT Ibtissam  
 437. Pr. FAROUDY Mamoun  
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham  
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine  
 442. Pr. JROUNDI Laila  
 443. Pr. KARMOUNI Tariq  
 444. Pr. KILI Amina  
 445. Pr. KISRA Hassan  
 446. Pr. KISRA Mounir  
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz\*  
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
 450. Pr. MANSOURI Hamid\*  
 451. Pr. NAZIH Naoual  
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak  
 453. Pr. SAFI Soumaya\*

Microbiologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Parasitologie  
 Rhumatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Histo-Embryologie Cytogénétique  
 Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique

Dermatologie  
 Radiologie  
 Dermatologie  
 Hématologie  
 O.R.L  
 Biophysique  
 Chirurgie - Pédiatrique  
 Chirurgie Cardio - Vasculaire  
 Chirurgie Cardio - Vasculaire  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Gastro-entérologie  
 Cardiologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Urologie  
 Médecine Interne  
 Anesthésie Réanimation  
 Microbiologie  
 Radiologie  
 Urologie  
 Pédiatrie  
 Psychiatrie  
 Chirurgie - Pédiatrique  
 Médecine Interne  
 Pharmacie Galénique  
 Parasitologie  
 Radiothérapie  
 O.R.L  
 Psychiatrie  
 Endocrinologie

454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
 455. Pr. SEFIANI Sana  
 456. Pr. SOUALHI Mouna  
 457. Pr. TELLAL Saida\*  
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Psychiatrie  
 Anatomie Pathologique  
 Pneumo – Phtisiologie  
 Biochimie  
 Pneumo – Phtisiologie

### **Octobre 2007**

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila  
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar \*  
 462. Pr. BAITE Abdelouahed \*  
 463. Pr. TOUATI Zakia  
 464. Pr. OUZZIF Ezzohra \*  
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine \*  
 466. Pr. SELKANE Chakir \*  
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef \*  
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi \*  
 469. Pr. EL ABSI Mohamed  
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader \*  
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad \*  
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
 473. Pr. GHARIB Noureddine  
 474. Pr. TABERKANET Mustafa \*  
 475. Pr. ISMAILI Nadia  
 476. Pr. MASRAR Azlarab  
 477. Pr. RABHI Monsef \*  
 478. Pr. MRABET Mustapha \*  
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine \*  
 480. Pr. SEFFAR Myriame  
 481. Pr. LOUZI Lhoussain \*  
 482. Pr. MRANI Saad \*  
 483. Pr. GANA Rachid  
 484. Pr. ICHOU Mohamed \*  
 485. Pr. TACHFOUTI Samira  
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
 487. Pr. MELLAL Zakaria  
 488. Pr. AMMAR Haddou \*  
 489. Pr. AOUI Sarra  
 490. Pr. TLIGUI Houssain  
 491. Pr. MOUTAJ Redouane \*  
 492. Pr. ACHACHI Leila  
 493. Pr. MARC Karima  
 494. Pr. BENZIANE Hamid \*  
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual \*

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

496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

### Mars 2009

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

Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha \*  
Pr. KADI Said \*

Radiologie  
Rhumatologie  
Rhumatologie  
Traumatologie orthopédique  
Traumatologie orthopédique

### **Octobre 2010**

Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. CHERRADI Ghizlan  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. KANOUNI Lamya  
Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
Pr. DARBI Abdellatif\*  
Pr. EL HAFIDI Naima  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. BOUSSIF Mohamed\*  
Pr. EL MAZOUZ Samir  
Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
Pr. EL SAYEGH Hachem  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
Pr. BOUAITY Brahim\*  
Pr. LEZREK Mounir  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. ZOUAIDIA Fouad  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. DAMI Abdellah\*  
Pr. CHADLI Mariama\*

Médecine interne  
Gastro entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie réanimation  
Radiothérapie  
Radiologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Médecine aérologique  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Chirurgie pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Ophtalmologie  
Hématologie  
Anatomie pathologique  
Anatomie pathologique  
Physiologie  
Biochimie chimie  
Microbiologie

### **ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES**

#### **PROFESSEURS**

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUAZZANI LallaChadia

Physiologie  
Biochimie  
Pharmacologie  
Histologie-Embryologie  
Chimie Organique et Pharmacie Chimique  
Applications Pharmaceutiques  
Génétique Humaine  
Microbiologie  
Biochimie

10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Pharmacologie
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**\* *Enseignants Militaire***

# *Dédicaces*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,  
l'amour, le respect, A ceux qui me sont les plus chers*

*A ceux qui ont toujours cru en moi*

*A ceux qui m'ont toujours encouragé*

*Aussi, c'est tout simplement que...*



*Je dédie cette Thèse... ✍️*

## *A mes très chers parents*

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.*

*Votre bonté et votre générosité sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.*

*J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.*

*Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide.*

*J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois. Ce titre de Docteur en Pharmacie je le porterai fièrement et je vous le dédie tout particulièrement.*

*Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé, longue vie et vous garder à mes côtés le plus longtemps possible*

*Je vous adore ....*

*A mes très chères sœurs Inass, Jihane et leurs maris, Wijdane, et  
Nouha.*

*Pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour  
vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements. Que ce travail soit le  
témoin de la reconnaissance infinie. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et  
que je sois toujours la sœur dont vous serez fier.*

*J'espère que vous trouverez dans cette thèse le témoignage de mes  
sentiments les plus sincères et les plus affectueux.*

*Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.*

*Je vous adore ....*

## *A mon petit ange Yahya Amria*

*La joie*

*Le bonheur*

*L'espoir*

*L'amour*

*Merci pour tous ce que tu m'offres dans ton regard.*

*Je te dédie ce travail en te souhaitant longue vie, prospérité et bonne santé. Je t'aime du fond du fond du cœur. Que dieu te garde.*

## *A Mes grands parents*

*Aucune expression ne pourrait exprimer à leur juste valeur, la reconnaissance, le soutien, le respect et l'estime que je vous dois.*

*Puisse Dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité.*

*A mes oncles et tantes,*

*A mes cousins et cousines*

*A tous les membres de la famille*

*En témoignage de ma gratitude et de mon affection la plus sincère, je vous dédie ce travail.*

*A mes très chères amies*

*Siham, Amina Ou, Oumnia, Lamyae, Meriama, meryem, houda, Chaimae,  
Ibtissam, Amina M, Asmae, Amal, Hanae, Ilham, Hanaa. ....*

*Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et ma  
reconnaissance envers vous, pour votre soutien et votre patience, pour vos efforts  
et votre dévouement.*

*Je dédie ce travail à toutes nos préparations, les jours et les nuits blanches, nos  
larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie. A tous les moments  
qu'on a passés ensemble .A notre belle amitié.*

*Que dieu vous comble de bonheur, de santé, de succès et de prospérité dans votre  
vie et vous protège.*

*A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.*

*Dans le regret de ne pouvoir tous citer, je dédis ce travail à toute  
personne qui a contribué de près ou de loin à sa réalisation.*

# *Remerciements*

*A notre maître et président de thèse  
Monsieur Mimoun Zouhdi  
Professeur de Microbiologie*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous  
faites en acceptant de présider le jury de ce travail.  
Nous avons pour vous l'estime et le respect qu'imposent  
votre compétence, votre sérieux et votre richesse  
d'enseignement.*

*Veillez trouver, cher maître, dans ce modeste travail,  
l'expression de notre très haute considération et notre  
profonde gratitude.*

*A notre maître et rapporteur de thèse*

*Madame Sakina El Hamzaoui*

*Professeur de Microbiologie*

*Vous nous avez fait le grand honneur d'accepter de nous diriger dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien fait est l'objet de notre considération.*

*Votre amabilité, Votre dynamisme, votre dévouement pour le travail et votre compétence ont suscité notre admiration.*

*En espérant que cet humble travail saura combler vos attentes, veuillez recevoir cher maitre l'expression de notre profonde gratitude.*

*A notre maître et juge de thèse*

*Madame Saida Tellal*

*Professeur de Biochimie et Biochimie clinique*

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

*Nous avons admiré vos qualités scientifiques, humaines et  
pédagogiques.*

*Veillez trouver, cher maître, à travers ce modeste travail la  
manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les  
plus respectueux.*

*A notre maître et juge de thèse*  
*Madame Fatima Jabourik*  
*Professeur de Pédiatrie*

*C'est un réel plaisir et un honneur pour nous de vous compter  
parmi les membres de ce jury de thèse. En dépit de vos nombreuses  
occupations vous avez accepté de venir juger ce travail  
Veuillez trouver, cher maître, l'expression de notre très haute  
considération et notre profonde gratitude.*

## Liste des abréviations :

*P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*

**HMMIV** : Hôpital militaire d'instruction Mohamed V.

**BGN** : Bacilles à Gram Négatif.

**CIP** : Ciprofloxacine

**RD** : Rifampicine

**AK** : Amikacine

**TOB** : Tobramycine

**CN** : Gentamicine

**CFS** : Cefsulodine

**IPM** : Imipénème

**FOS** : Fosfomycine

**CT** : Colistine

**TIC** : Ticarcilline

**ATM** : Aztéonam.

**CAZ** : Céftazidime.

**TZP** : Pipéracilline+tazobactam

**CPO** : Céfépime

**PRL** : Pipéracilline

**FEP** : Céfépime

**BCP** : Pourpre de bromocrésol.

**M.H** : MUELER-HINTON.

**L.D.C** : Lysine-décarboxylase.

**VF** : VIANDE-FOIE.

**API** : Appareillage et Procédés d'Identification.

<b>NE</b>	: Non Entérobactéries.
<b>VP</b>	: Voges-Proskauer.
<b>H<sub>2</sub>S</b>	: Thiosulfate de sodium.
<b>NO<sub>3</sub></b>	: Potassium nitrate
<b>TRP</b>	: Tryptophane
<b>GLU</b>	: Glucose
<b>ADH</b>	: Arginine
<b>URE</b>	: Urée
<b>ESC</b>	: Esculine
<b>GEL</b>	: Gélatine
<b>PNPG</b>	: Nitrophényl galactopyranoside
<b>ARA</b>	: Arabinose
<b>MNE</b>	: Mannose
<b>MAN</b>	: Mannitol
<b>NAG</b>	: Acétyl-glucosamine
<b>MAL</b>	: Maltose
<b>GNT</b>	: Potassium gluconate
<b>CAP</b>	: Acide caprique
<b>ADI</b>	: Acide adipique
<b>MLT</b>	: Acide malique
<b>CIT</b>	: Trisodium citrate
<b>PAC</b>	: Acide phénylacétique

## Liste des figures :

**Figure 1 :** *P. aeruginosa* en microscopie électronique

**Figure 2 :** Ciliature monotriche de *P. aeruginosa*

**Figure 3 :** Aspect des colonies larges de *P. aeruginosa*

**Figure 4 :** Aspect des colonies Small de *P. aeruginosa*

**Figure 5 :** Aspect des colonies muqueuses de *P. aeruginosa*

**Figure 6 :** Mécanismes de résistance aux antibiotiques

**Figure 7 :** photo de la gélose au sang cuit

**Figure 8 :** photo de la gélose BCP

**Figure 9 :** milieu Mueller-Hinton avec des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* et deux disques de la Tobramycine et gentamicine réalisés au laboratoire de bactériologie, HMIMV Rabat-2012 / *SOLBI soukaina*

**Figure 10 :** Milieu de citrate de Simmons

**Figure 11 :** milieu Lactose-Glucose-H<sub>2</sub>S (KLIGLER-HAJNA)

**Figure 12 :** milieu MANNITOL-MOBILITE-NITRATE

**Figure 13 :** Image du milieu LDC réalisée au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012 /*SOLBI soukaina*

**Figure 14 :** Milieu viande foie avec des bactéries productrice (1) et non (2) du gaz

**Figure 15 :** Milieu urée indole réalisée au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012 /*SOLBI soukaina*

**Figure 16:**Bec bensen/propane

**Figure 17 :** Boite de pétri

**Figure 18 :** Une anse en platine

**Figure 19 :** Pipettes pasteur avec un embout permettant de pomper le liquide

**Figure 20 :** lames en verre

**Figure 21 :** microscope optique

**Figure 22 :** portoir des tubes de la galerie classique réalisé au laboratoire de microbiologie,

HMMIV, Rabat / *SOLBI soukaina*

**Figure 23 :** Tubes d'eau stériles

**Figure 24 :** tubes à hémolyses

**Figure 25 :** étuve d'incubation

**Figure 26 :** bain marie utilisé en bactériologie

**Figure 27 :** méthode d'ensemencement en quadrant

**Figure 28 :** ensemencement en quadrant d'une souche de *P. aeruginosa* sur BCP au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012/*SOLBI soukaina*

**Figure 29 :** méthode de réalisation de l'inoculum pour le remplissage de la galerie classique.

**Figure 30 :** méthode de réalisation de l'inoculum pour le remplissage de l'antibiogramme

**Figure 31:** Aspect des colonies de *P. aeruginosa* après repiquages successifs sur milieu BCP réalisé au laboratoire de microbiologie , HMIMV Rabat-2012-/*SOLBI soukaina*

**Figure 32:** Gram de *P. aeruginosa* après repiquages successifs. Laboratoire de microbiologie, HMIMV Rabat-2012-/*SOLBI soukaina*

**Figure 33 :** Aspect de la galerie classique de LEMINOR ensemencée par *P. aeruginosa* après incubation à 37°C, Laboratoire de microbiologie, HMIMV, Rabat / *SOLBI soukaina*

**Figure 34 :** milieu mannitol mobilité ensemencé par *Pseudomonas aeruginosa*. Laboratoire de microbiologie, HMIMV, Rabat /*SOLBI soukaina*

**Figure 35:** Antibiogramme de *P. aeruginosa* réalisé au sein de laboratoire de microbiologie. HMIMV, Rabat/ *SOLBI soukaina*

## Liste des tableaux :

**Tableau I :** classification de *Pseudomonas aeruginosa* selon Bergey

**Tableau II:** Classification des principaux antibiotiques actifs sur *P. aeruginosa*

**Tableau III :** Lecture de la galerie miniaturisée API 20 NE

**Tableau IV :** Caractéristiques macroscopiques de *P. aeruginosa* cultivée sur milieu BCP après incubation à 37°C. HMIMV. Rabat. 2011/2012

**Tableau V:** Paramètres biochimiques de *P. aeruginosa* lus par la galerie classique après incubation à 37°C

**Tableau VI :** Paramètres biochimiques de *P. aeruginosa* sur la galerie API 20 NE après incubation à 37°C

**Tableau VII :** Comportement de *P. aeruginosa* vis-à-vis certains antibiotiques.

# SOMMAIRE

<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>II. GENERALITE SUR PSEUDOMONAS AERUGINOSA .....</b>	<b>4</b>
II.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Prérequis et rappels bactériologiques.....	5
II.2. Caractères phénotypiques.....	6
II.3. Caractères génotypiques.....	10
II.4. Facteurs de virulence.....	10
II.5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	13
II.6. Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques .....	15
II.6.A. Résistance naturelle .....	15
1. Résistance aux bêtalactamines .....	15
2. Résistance aux aminosides .....	15
3. Résistance aux autres antibiotiques .....	15
II.6.B. Principaux antibiotiques actifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
II.7. Phénotype de la souche bactérienne.....	17
<b>III. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>18</b>
Type d'étude, date et lieu.....	19
<b>III.1 Matériels.....</b>	<b>19</b>
III.1.1 La souche incluse.....	19
III.1.2 Les milieux de culture utilisés.....	19
III.1.3 Autres matériels.....	27
<b>III.2 Méthodes.....</b>	<b>31</b>
III.2.1 Préparation des milieux de culture.....	32
III.2.2 Repiquage.....	32
III.2.3 Ensemencement.....	33
III.2.4 Incubation.....	34
III.2.5 Identification.....	35
II.2.5.1 Aspect macroscopique (colonies).....	35

III.2.5.2 État frais entre lame et lamelle.....	35
III.2.5.3 Aspect microscopique (gram) .....	35
III.2.5.4 Caractères biochimiques (la galerie classique de leminor).....	36
III.2.5.5 caractères biochimiques de la galerie API 20 NE .....	38
III.2.5.6 Antibiogramme .....	40
III.2.5.6.1 Définition.....	40
III.2.5.6.2 Réalisation.....	40
III.2.5.6.2.1 Inoculum.....	40
III.2.5.6.2.2 Milieu d'ensemencement .....	41
III.2.5.6.2.3 Technique utilisée d'ensemencement.....	41
III.2.5.6.2.4 Application des disques.....	41
III.2.5.6.2.5 Liste des antibiotiques utilisés pour <i>P. aeruginosa</i> .....	42
III.2.5.6.2.6 Incubation.....	42
III.2.5.6.3 Lecture d'antibiogramme.....	42
<b>IV. RESULTAT.....</b>	<b>44</b>
<b>IV.1 LES CARACTERISTIQUES MACROSCOPIQUES DE LA SOUCHE</b>	
<b>BACTERIENNE.....</b>	<b>47</b>
IV.1.1 La pureté.....	48
IV.1.2 La viabilité.....	48
IV.1.3 La forme des colonies :.....	49
IV.1.3.1 Allure des contours des colonies.....	49
IV.1.3.2 la forme du relief des colonies.....	50
IV.1.4 Aspect de la surface des colonies.....	50
IV.1.5 La taille des colonies.....	50
IV.1.6 La couleur et/ou pigment des colonies.....	50
<b>IV.2 LES CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUES.....</b>	<b>50</b>
IV.2.1 Les caractéristiques microscopiques à l'état frais.....	50
IV.2.2 Les caractéristiques microscopiques après coloration de Gram.....	50
<b>IV.3 LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES.....</b>	<b>52</b>
IV.3.1 Galerie classique de LEMINOR.....	52

IV.3.2 Galerie API 20 NE (Non entérobactéries) .....	55
<b>IV.4 COMPORTEMENT VIS-A-VIS CERTAINS ANTIBIOTIQUES.....</b>	<b>56</b>
<b>V. DISCUSSION.....</b>	<b>58</b>
<b>VI. LIMITES.....</b>	<b>62</b>
<b>VII. PERSPECTIVES D'AVENIR.....</b>	<b>64</b>
<b>VIII. CONCLUSION .....</b>	<b>66</b>
<b>RESUME</b>	
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

# *I. INTRODUCTION*

Le repiquage correspond au prélèvement d'une petite partie d'une culture de bactéries ou de tissus pour la transplanter sur un milieu neuf où elle continuera sa croissance. [1, 2]

Le repiquage des bactéries est nécessaire pour obtenir un nombre de bactérie correcte pour les analyses. Il se fait par la culture de bactéries dans un milieu nutritif à 37°C pendant 24 heures. [3]

Cela permet de :

- Isoler les bactéries pour les dénombrer en cas de contrôle sanitaire par exemple ;
- Identifier une bactérie en cas d'une souche pure ;
- Réaliser un antibiogramme à partir d'une colonie pure afin de déterminer la sensibilité de la bactérie et de trouver un traitement adapté à une infection ;
- Avoir un nombre important de bactéries à partir d'une colonie pure pour d'éventuelle utilisation.

Le repiquage nécessite des conditions de travail rigoureuses tel que la stérilisation du matériel et l'hygiène du manipulateur pour éviter toute contamination de la souche en question ainsi que de l'environnement y compris le manipulateur.

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) est un bacille à Gram négatif non fermentant, aérobie stricte dont l'habitat est particulièrement étendu. Il s'agit d'un microorganisme saprophyte de l'environnement, notamment au niveau de l'eau, des sols humides et des végétaux. Il est également un commensal de l'homme, en particulier au niveau intestinal. [4, 5]

*Pseudomonas aeruginosa* est dit pathogène opportuniste car bien que pouvant être isolé d'infections communautaires, il est le plus souvent responsable d'infections nosocomiales. [6, 7, 8].

Depuis quelques décennies, ce bacille pose de grands problèmes thérapeutiques partout dans le monde. La capacité de survie dans des conditions rudimentaires, la résistance naturelle et la grande diversité des plasmides confèrent à cette bactérie un grand potentiel d'acquisition des résistances. Par ailleurs, l'utilisation croissante d'antibiotiques à large spectre sélectionne les

souches multirésistantes. La résistance touche de nombreuses classes d'antibiotiques: les bêtalactamines à large spectre, les aminosides et les fluoroquinolones. [6, 8]

### ✓ *L'objectif général du travail*

Le but de notre travail, est l'étude de l'effet des repiquages successifs sur le comportement de *Pseudomonas aeruginosa* de point de vue morphologique, biochimique, et sensibilités aux antibiotiques.

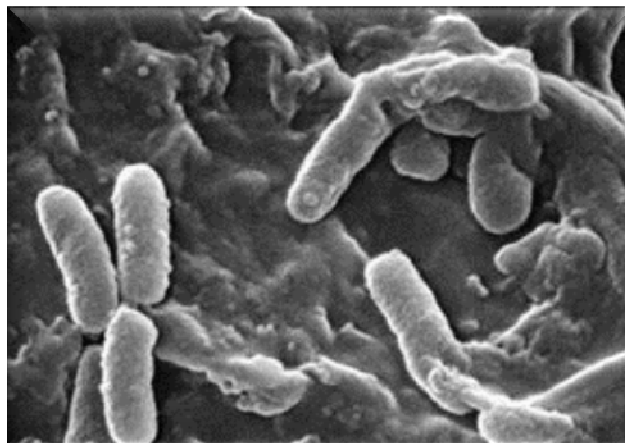
*II . GENERALITES  
SUR PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA*

## II.1 *Pseudomonas aeruginosa* : prérequis et rappels

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* du latin *aeruginosus*=couvert de rouille, autrefois appelé «bacille pyocyanique», du grec *puon*=pus et *kuanos*=bleu foncé, a été découvert en 1882 par un pharmacien militaire français A. Gessard. La création du genre *Pseudomonas* remonte à Migula (1900).<sup>[9,10]</sup>

C'est l'espèce la plus connue, la plus répandue du genre *Pseudomonas*, et la plus pathogène, elle constitue l'espèce type du genre. Les autres espèces du genre étant : *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. suringae*.<sup>[9,10]</sup>

*P. aeruginosa* appartient aux bacilles à Gram négatif non fermentant, cultivant sur des milieux ordinaires et possédant un métabolisme respiratoire strict (utilisation de l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons). Ces bacilles à métabolisme oxydatif ne fermentent pas les sucres en anaérobiose et sont qualifiées de « non fermentant » ou « non fermentaires ». <sup>[11]</sup>



**Figure 1** : *P. aeruginosa* en microscopie électronique <sup>[12]</sup>

*P. aeruginosa* est une bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'Homme et de divers animaux. <sup>[10, 13, 14, 15]</sup>

*Pseudomonas aeruginosa* est classée d'après **Bergey** comme suit :

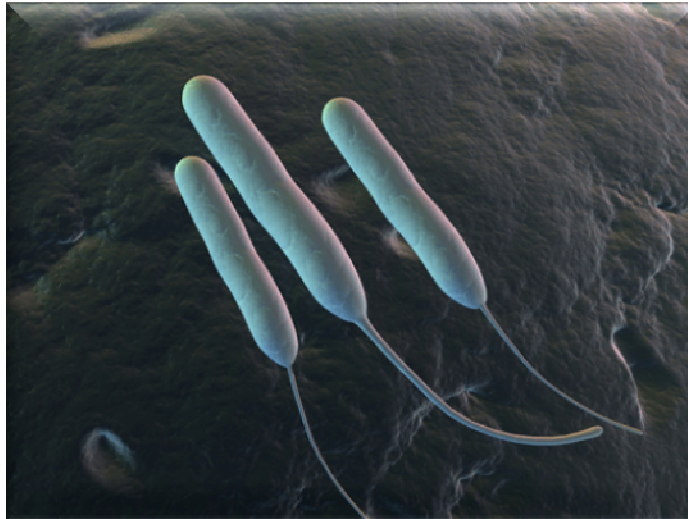
**Tableau I : classification de *Pseudomonas aeruginosa* selon Bergey <sup>[14]</sup> :**

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	Pseudomonas
Espèce	Aeruginosa

La classification de *P. aeruginosa* (comme toutes les bactéries) a d'abord été fondée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (morphologiques, biochimiques....); puis sur leur caractères génotypiques (l'étude du génome). <sup>[16]</sup>

## **II.2 Caractères phénotypiques :**

*P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif aérobie stricte: 1 à 3µm de long ; 0,5 à 1µm de large. Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée **slime** qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie, il est très mobile grâce à une ciliature polaire en général monotriche.



**Figure 2 :** *Ciliature monotriche de P. aeruginosa* <sup>[17]</sup>

Il peut être cultivé facilement sur tous les milieux en aérobiose (température de 37°C ou 30 °C), il dégage une **odeur aromatique** caractéristique de seringa due à la production d'ortho amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment. Un milieu sélectif comme le milieu de Drigalski convient pour la culture. Des milieux sélectifs à base de **Cétrimide** que l'on peut additionner d'antibiotiques (acide nalidixique) sont proposés pour la recherche dans des produits très contaminés ou dans les eaux (hydrologie). <sup>[10,13]</sup>

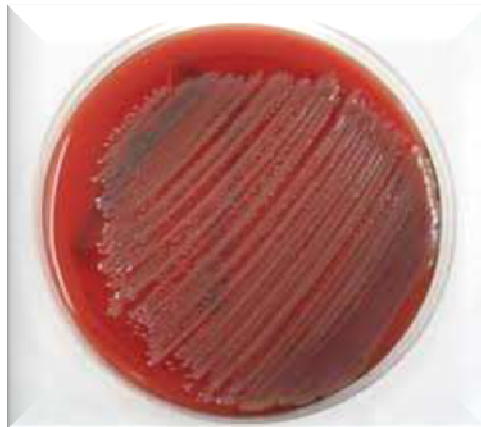
Trois types de colonies peuvent être observées simultanément ou de manière isolée <sup>[10,11, 13]</sup>:

**– Colonies la « large » :** isolées, grandes, avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier. Elles sont caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métallique, irisé lors de la ciliature en nappe de la bactérie. Ce phénomène est lié à l'action des enzymes protéolytiques bactériennes.



**Figure 3** : Aspect des colonies larges de *P. aeruginosa* <sup>[18]</sup>.

\_ **Colonies S « small »** : petites, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier.



**Figure 4** : Aspect des colonies Small de *P. aeruginosa* [19].

\_ **Colonies M « muqueuses »** : bombées, opaques, visqueuses, parfois coulantes. Ces colonies se rencontrent presque spécifiquement dans des infections chroniques, urinaires ou pulmonaires. La bactérie produit alors un polysaccharide extracellulaire (l'acide alginique) qui est différent du « slime ».



**Figure 5** : Aspect des colonies muqueuses de *P. aeruginosa* <sup>[20]</sup>.

Cette espèce est caractérisée par la production des pigments :

- \_ **La pyocyanine** : pigment bleu, soluble dans l'eau et le chloroforme, caractéristique du *P. aeruginosa* qui est la seule espèce à le produire (composé fortement polaire, de nature phénazinique).
- \_ **La pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau insoluble dans le chloroforme.
- \_ **D'autres pigments hydrosolubles** peuvent être produits parfois de manière transitoire : la pyomélanine brune et la pyorubine rouge.

*P.aeruginosa* possède :

- \_ Une oxydase
- \_ Une nitrate-réductase (réduction des nitrates en nitrites pouvant aller jusqu'au stade d'azote gazeux)
- \_ Un métabolisme oxydatif des sucres, et non fermentatif contrairement aux entérobactéries.
- \_ Une arginine-dihydrolase.
- \_ Une lécithine (qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide)
- \_ Un pouvoir protéolytique.

### II.3 Caractères génotypiques <sup>[13, 14]</sup>

Le génome de *P. aeruginosa* est le plus grand génome bactérien, jamais séquencé. Le chromosome bactérien comprend 6,3 millions de paires de bases, codant pour 5570 gènes, dont la fonction est soit connue avec certitude, soit supposée par comparaison des séquences avec des génomes d'autres espèces bactériennes, soit inconnue. Soixante-dix à 90 % des gènes sont spécifiques de l'espèce, et 10 à 30 % sont spécifiques du clone bactérien. Le génome chromosomique code notamment pour la plupart des facteurs de pathogénicité de *P. aeruginosa*, et pour les multiples protéines conférant la résistance aux différentes classes d'antibiotiques. La proportion de gènes de régulation est la plus importante de tous les génomes bactériens séquencés connus. Outre le chromosome bactérien, *P. aeruginosa* possède de nombreux plasmides transférables par conjugaison ou par transduction.

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

### II.4 Facteurs de virulence <sup>[9,21]</sup>

Le bacille pyocyanique est une bactérie de faible virulence cependant lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont effondrées, ce germe peut exprimer de nombreux facteurs de virulence qui jouent un rôle certain dans la pathogénicité :

- **Composants de la membrane externe :**

**-Le lipopolysaccharide (LPS) :** déterminant antigénique principal de la membrane externe, très hétérogène, il est constitué d'un socle lipidique, d'un noyau commun, et d'une chaîne polysaccharidique plus ou moins longue.

*P. aeruginosa* synthétise un LPS homopolymérique de structure conservée, et un LPS hétéropolymérique dont la structure varie. Lorsque le LPS est complet, la bactérie se présente sous sa forme la plus virulente, qui résiste à l'action bactéricide de sérums, inaccessible au complément et protégée de la phagocytose. Vingt antigènes lipopolysaccharidiques ont été

définis, dont 16 sont déterminables par agglutination à l'aide de sérums de lapins, et permettent de définir les sérotypes O des souches de *P. aeruginosa*. Les sérotypes les plus fréquemment isolés sont O: 6 et O:11. Le sérotype O: 12 est souvent très résistant aux antibiotiques. Il existe des souches non sérotypables qui sont de types muqueux, non agglutinables ou poly-agglutinables.

**-Le flagelle** <sup>[22]</sup> : unique et polaire, il confère la mobilité à *P. aeruginosa*. (Quelques rares cellules portent plusieurs flagelles polaires).

**-Les pilis**: filaments fins situés en position polaires, reconnaissant spécifiquement des récepteurs des cellules épithéliales respiratoires et capables de rétraction, conférant à *P. aeruginosa* des caractéristiques d'adhésion et de mobilité par tiraillement lui permettant de se déplacer sur des surfaces solides.

**-Les adhésines** : participent à l'adhésion aux cellules épithéliales après que les pilis ont réalisé un premier ancrage.

**-Les porines** : protéines formant des canaux permettant le passage des molécules hydrophiles à travers la membrane externe hydrophobe. Leur nombre et leur taille conditionnent la perméabilité aux antibiotiques. Le principal est l'OprF. Les porines permettent la pénétration des  $\beta$ -lactamines et leur mutation peut être associée à la résistance.

**-L'alginat** <sup>[23]</sup> : la production d'alginat réalise un biofilm qui favorise l'adhésion, et protège la bactérie de la phagocytose, des anticorps, du complément et de l'action des antibiotiques. Les bactéries qui le produisent ne sont pas sérotypables (diminution de production du LPS).

- **Produits diffusibles :**

**-Pigments** : sont des sidérophores: molécules contenant du fer, synthétisées à partir des cellules eucaryotes de l'hôte, et se comportant comme de véritables chélateurs du fer entrant en compétition avec la transferrine (dans le sang) et la lactoferrine (dans les voies respiratoires). Elles ont aussi une action pro- inflammatoire, et interfèrent avec les défenses antioxydants en inhibant la catalase. Elles sont produites dans le milieu extérieur puis récupérées sous forme complexée. Les sidérophores sont : la pyoverdine et la pyocyanine.

**-Toxines :**

**-La cytotoxine** : elle détruit la membrane des leucocytes en entraînant la formation de pores et la fuite de granules et d'enzymes lysosomales.

**-L'exotoxine A** : elle a des similitudes de structure et d'action avec la toxine diphtérique. Elle interfère avec la synthèse protéique, inactive le facteur d'élongation des chaînes peptidiques des eucaryotes, ce qui aboutit à la lyse cellulaire avec lésions tissulaires et à l'invasion bactérienne. Elle participe au caractère systémique de l'infection.

**-L'exotoxine S** : c'est une enzyme qui dépolarise les filaments d'actine et de vimentine du cytosquelette dans les macrophages. Elle a également une action sur l'invasion tissulaire et la dissémination bactérienne.

**-Hémolysines :**

**-la phospholipase C (PLC)** : enzyme essentielle dans le pouvoir pathogène de *P. aeruginosa* comme en témoigne la faible virulence des mutants dans le gène correspondant. Elle est produite en réponse à un taux bas de phosphore dans l'environnement bactérien, et hydrolyse les phospholipides des membranes des cellules eucaryotes, Mais aussi des hématies, et des surfactants pulmonaires.

**-Le rhamnolipide:** il émulsifie les phospholipides des parois membranaires

**-protéases <sup>[24]</sup> :**

Elles sont surtout efficaces dans les premières étapes de l'infection, en créant les lésions tissulaires permettant l'implantation de *P. aeruginosa*, mais aussi en inactivant des protéines de défense de l'hôte. Elles comprennent :

**-L'élastase B :** elle détruit les jonctions entre les cellules épithéliales et les composants des lames basales des épithéliums (notamment pulmonaires et cutanées), dégrade la fibrinogène et la fibrine, stimule la sécrétion muqueuse et inactive l'inhibiteur  $\alpha 1$  des protéases des polynucléaires. Elle dégrade aussi les anticorps (formation d'anticorps bloquants non fonctionnels), les protéines du complément, et certaines cytokines.

**-L'élastase A :** elle détruit l'élastine et la rend plus vulnérable à l'action de l'élastase B (action synergique).

**-L'élastase D**

**-La porine alcaline :** elle dégrade l'interféron  $\gamma$  et les composants du complément. Son rôle a surtout été décrit dans les lésions oculaires (cornée).

## **II.5 Mécanismes de résistance aux antibiotiques <sup>[25, 26, 27]</sup> :**

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque et la résistance acquise. La résistance intrinsèque (ou naturelle ou insensibilité) est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc....)

A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre; dans certains cas, elle peut concerner la grande majorité de ces souches. Sur le plan biochimique, les bactéries ont développé **quatre grands mécanismes** d'acquisition de la résistance :

## Mécanismes de résistance à l'antibiotique

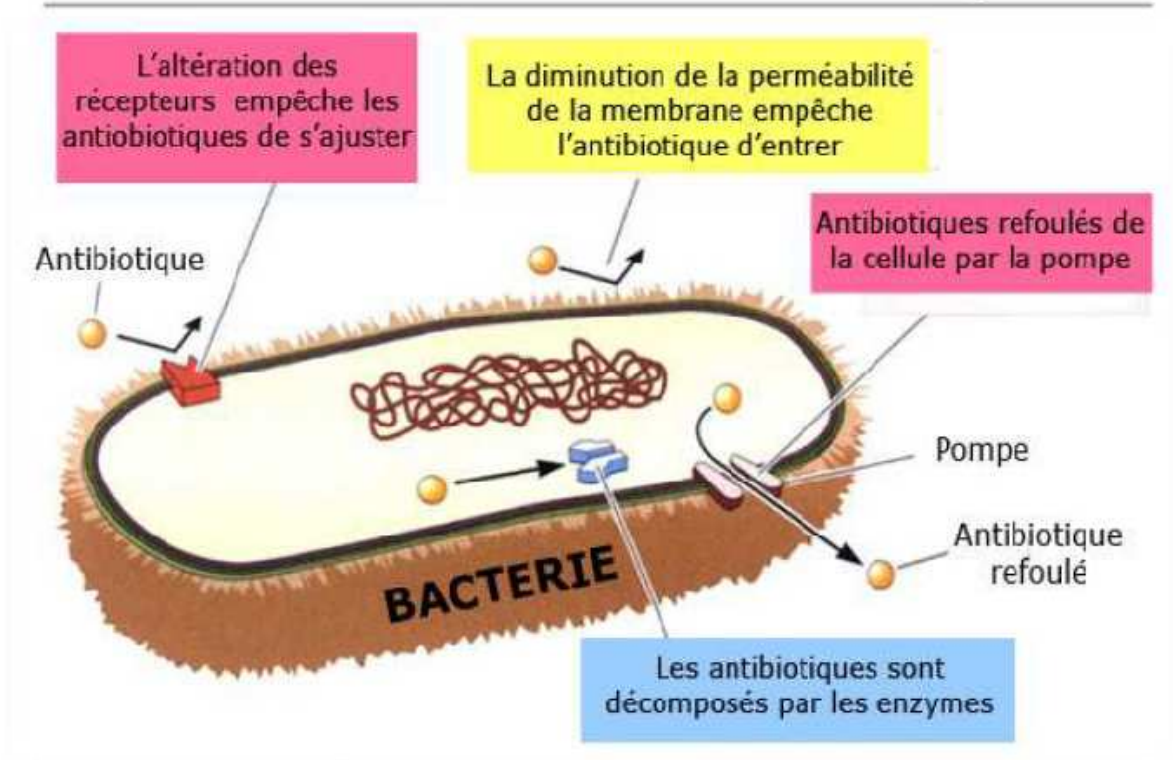


Figure 6 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques <sup>[28]</sup>.

- \_ **La modification de la cible**, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière ;
- \_ **La production d'une enzyme** qui va décomposer l'antibiotique ;
- \_ **L'imperméabilité**, notamment par diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif.

**\_ L'efflux des antibiotiques** à l'extérieur de la cellule par des pompes énergies dépendantes. Le motif commun à ces différents mécanismes de résistances est d'empêcher l'interaction de l'antibiotique avec sa cible.

## **II.6. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques** <sup>[9 25 29]</sup>.

### **II .6.A Résistance naturelle de *P.aeruginosa* :**

#### **1) Résistance aux bêtalactamines :**

*P. aeruginosa* est naturellement résistant aux aminopénicillines dont l'amoxicilline, les céphalosporines de 1ère génération, les céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération, le cefotaxime, et le ceftriaxone.

#### **2) Résistance aux aminosides :**

*P. aeruginosa* est naturellement résistant à la kanamycine, lanéomycine et la spectinomycine.

#### **3) Résistance aux autres antibiotiques :**

*P. aeruginosa* est naturellement résistant aux macrolides, tétracyclines, chloramphénol, sulfamides, glycopeptides, quinolones de 1ère génération, lincosamides, synergistines, nitrofuranes, et nitroimidazolés.

### **II.6.B. Principaux antibiotiques actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*** <sup>[30]</sup> :

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes. Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

**Tableau II: Classification des principaux antibiotiques actifs sur *P. aeruginosa* [30]**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Familles</b>	<b>Mode d'action</b>
Ticarciline	Carboxypenicillines	Les $\beta$ lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne.
Aztréonam	Monobactames	
Imipénème	Carbapénèmes	
Céftazidime	Cephalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération	
Gentamicine	Aminoglycosides	Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides.
Amikacine		
Colistine	Polymyxine	Agit au niveau de la membrane cytoplasmique bactérienne entraînant l'éclatement de la bactérie.
Ciprofloxacine	Quinolones de 2 <sup>ème</sup> génération ou fluoroquinolone	Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-gyrase" en empêchant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien.

### **II.7.C. Phénotype de la souche bactérienne**

Plusieurs phénotypes ont été décrits chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour cette étude, nous avons travaillé avec un phénotype Imipénème-résistant dont le mécanisme, de loin le plus fréquent, est la diminution, voire la disparition de la porine D2 de la membrane externe de la bactérie, se caractérise par une pénétration sélective de certaines molécules et l'existence d'un site spécifique de liaison pour les carbapénèmes. L'association de ce phénotype à l'hydrolyse plus ou moins importante de la molécule par une céphalosporinase hyperproduite dans l'espace périplasmique et à un surcroît d'extrusion de l'antibiotique par une hyperexpression de la pompe d'efflux MexAB-OprM, aboutit à l'augmentation des CMI (concentration minimale inhibitrice) pour les carbapénèmes <sup>[31]</sup>. Ce mécanisme de résistance aux carbapénèmes est rarement isolé (4 à 5 % des souches de *P. aeruginosa*) et cette résistance n'est pas croisée avec les autres bêtalactamines <sup>[9]</sup>.

## *II. MATÉRIELS ET MÉTHODES*

- **Type d'étude :**

Il s'agit d'une étude prospective.

- **Date et lieu du travail :**

Cette étude a eu lieu à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V (HMMIV) de Rabat dans le laboratoire de microbiologie, s'étalant sur une période de trois mois de février 2012 à mai 2012.

### **III.1 MATERIELS :**

#### **III.1.1 La souche incluse :**

La souche incluse est *Pseudomonas aeruginosa* de phénotype imipenème résistant, isolée à partir d'un prélèvement distal protégé chez un patient hospitalisé dans le service de réanimation chirurgicale.

#### **III.1.2 Les milieux de cultures utilisées :**

- **Gélose au sang cuit** <sup>[32]</sup>:

Les géloses au sang cuit appelées géloses « chocolat » permettent de libérer par la cuisson, des facteurs de croissance supplémentaires. Néanmoins ces géloses sont souvent supplémentées en vitamines (ex : gélose « chocolat » Polyvitex). Elles permettent la croissance des bactéries exigeantes, en particulier celle du genre *Haemophilus*.



**Figure 7 :** photo de la gélose au sang cuit <sup>[33]</sup>

➤ **Milieu BCP lactose** <sup>[34]</sup>:

C'est une gélose lactosée au bromocrésol-pourpre, utilisé pour l'isolement des entérobactéries ; cependant de nombreuses espèces de bactéries n'appartenant pas à cette famille, peuvent cultiver sur ce milieu non inhibiteur. Il permet de différencier les espèces fermentant le lactose de celles qui ne le fermentent pas.

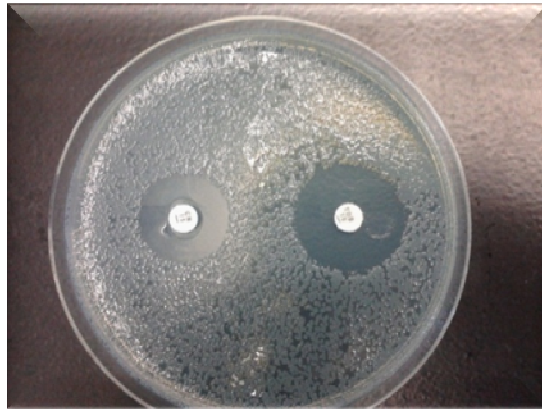


**Figure 8 :** photo de la gélose BCP <sup>[35]</sup>

➤ **Gélose de Mueller-Hinton (MH) :**

L'utilisation de cette gélose est recommandée par le Comité de l'Antibiogramme de la société Française de Microbiologie.

C'est un milieu utilisé pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques <sup>[36]</sup>



**Figure 9 :** Milieu Mueller-Hinton avec des colonies de *P. Aeruginosa* et deux disques de la Tobramycine et gentamicine réalisés au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012 / *SOLBI soukaina*

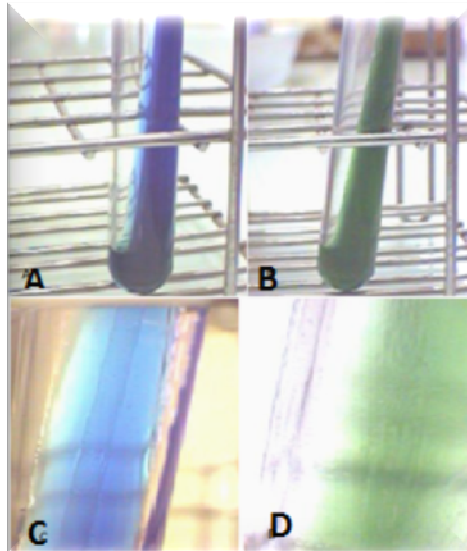
➤ **Milieux pour la galerie classique :**

✓ Citrate de Simmons <sup>[37]</sup> :

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce caractère est intéressant pour discriminer les bactéries entre-elles et ainsi de les identifier. Le substrat ici est le citrate. Il est ici la seule source de carbone et d'énergie pour la bactérie.

**Lecture :**

La présence de colonies le long de la strie centrale d'ensemencement sera la preuve d'un développement bactérien ce qui traduira le fait que la bactérie est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie. La présence d'un indicateur coloré de pH comme le BBT permettra de mettre en évidence une alcalinisation en cas d'utilisation du citrate.



A et C : citrate (+) B et D : citrate (-)

**Figure 10** : Milieu de citrate de Simmons <sup>[38]</sup>

✓ Milieu Lactose-Glucose-H<sub>2</sub>S (KLIGLER-HAJNA) <sup>[39]</sup> :

Ce milieu donne quatre réponses en 24 heures maximum :

- 1- Fermentation de lactose.
- 2- Fermentation de glucose.
- 3- La production de H<sub>2</sub>S (sulfure d'hydrogène).
- 4- La production du gaz.

**Lecture :**

- Pour la fermentation de lactose : La surface inclinée vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée.
- Pour la fermentation de glucose : le culot vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée
- S'il y a production de gaz, il est possible d'observer, soit seulement quelques bulles, soit une poche gazeuse qui décolle complètement le milieu du fond du tube.

- Pour la production de H<sub>2</sub>S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente. Avec les bactéries donnant peu d'H<sub>2</sub>S (*S. Typhi*), le noircissement reste localisé au niveau de la pique



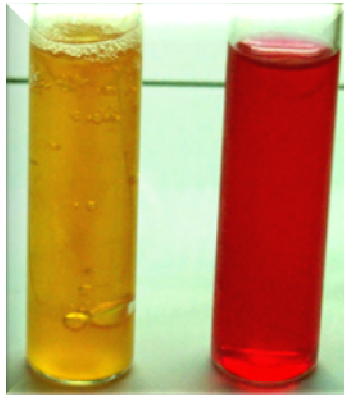
**Figure 11** : milieu Lactose-Glucose-H<sub>2</sub>S (KLIGLER-HAJNA) <sup>[40]</sup>

✓ Milieu mannitol-mobilité-nitrate <sup>[41]</sup> :

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autre du mannitol, du rouge de phénol comme indicateur de pH, après régénération au bain-marie bouillant pendant 20 min, le milieu est refroidi totalement puis ensemencé par pique centrale.

**Lecture :**

-Lorsque l'indicateur coloré passe du rouge au jaune, ce qui correspond à l'indication du milieu, le mannitol a été utilisé. Le caractère mobile est défini dans ce milieu par un trouble envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autre de la pique centrale, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la pique centrale, le type respiratoire est défini en ajoutant, à la surface du milieu, les réactifs de GRIESS\* (acide sulfanilique et alpha-naphtylamine), il est possible de mettre en évidence le nitrite, si la bactérie possède une nitrate-réductase.



**figure 12** : Milieu mannitol-mobilite-nitrate <sup>[42]</sup>

✓ L.D.C (lysine-décarboxylase selon Taylor) <sup>[43]</sup> :

Le milieu à la lysine de Taylor est un milieu liquide utilisé pour la recherche de la lysine décarboxylase.

Lecture :

- Si la lysine a été décarboxylée, le milieu est bleu-violet.
- Dans le cas contraire, il est jaune.
- En cas de coloration jaune bleuté, poursuivre l'incubation pendant 24 heures supplémentaires.



**Figure 13** : Image du milieu LDC réalisée au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012 /*SOLBI soukaina*

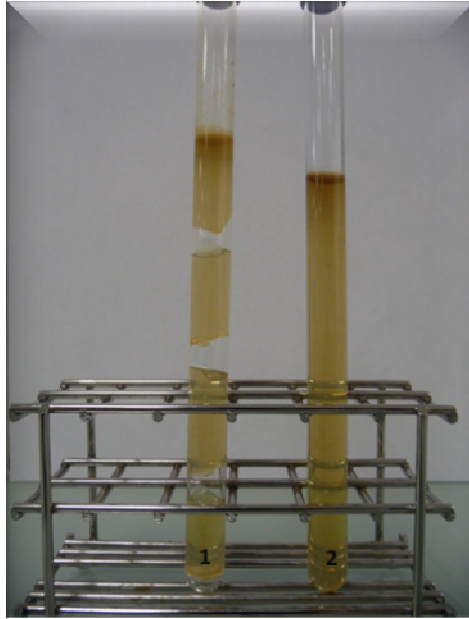
✓ Viande de foie <sup>[44]</sup> :

C'est un milieu semi-solide, gélosé à 6% est utilisé pour la recherche du mode respiratoire des bactéries, ainsi que pour l'isolement en profondeur des anaérobies.

**Lecture** : (recherche du mode respiratoire) :

Après incubation nécessaire au développement bactérien, il est possible de reconnaître 4 types principaux de mode respiratoire :

- Aérobies stricts, qui cultivent uniquement dans la zone superficielle ;
- Anaérobies stricts, qui cultivent uniquement en profondeur ;
- Aérobies-anaérobies facultatives, qui se développent sur toute la hauteur du milieu ;
- Micro-aérophiles, qui forment un anneau dans la zone intermédiaire aérobie-anaérobie.



**Figure 14** : Milieu viande foie avec des bactéries productrice (1) et non (2) du gaz <sup>[45]</sup>

✓ Milieu Urée-Indole <sup>[46]</sup> :

C'est un milieu liquide utilisé pour la recherche de :

- > L'Uréase
- > La production d'indole

La tryptophane-désaminase (TDA)



**Figure 15 :** Milieu urée indole réalisée au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012 /*SOLBI soukaina*

### **III.1.3 Autre matériels :**

#### **La galerie API 20 NE <sup>[47]</sup> :**

API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

La galerie API 20NE permet la recherche de :

- réduction des Nitrates en nitrites(NO<sub>3</sub>)
- réduction des Nitrates en azote(NO<sub>3</sub>)

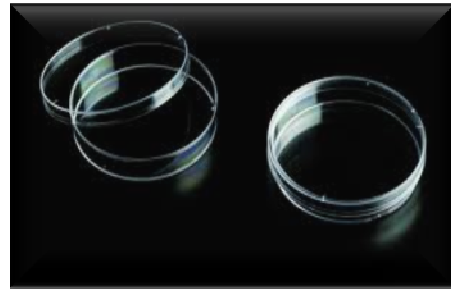
- formation d'indole (TRYPTOPHANE)
- fermentation (Glucose)
- Arginine Dihydrolase
- La présence d'une UREase
- L'hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase) (ESCuline)
- L'hydrolyse (protéase) (GELatine)
- $\beta$ -galactosidase (Para-NitroPhényl- $\beta$ DGalactopyranosidase)
- L'assimilation de : Glucose, ARABinose, Mannose, Mannitol, N-acétyl-Glucosamine, Maltose, Potassium Gluconate, acide Caprique, acide ADLpique, Malate, trisodium citrate, acide Phénylacétique .

**Bec Bensen (matériel de stérilisation) :**



**Figure 16:** Bec bensen/propane <sup>[48]</sup>

**les boites de pétris :**



**Figure 17 :** Boite de pétri <sup>[49]</sup>

**L'anse en platine :**



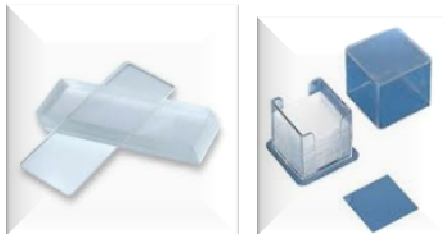
**Figure 18 :** Une anse en platine <sup>[50]</sup>

**Les pipettes pasteurs et les poires:**



**Figure 19 :** Pipettes pasteur avec un embout permettant de pomper le liquide <sup>[51]</sup>

**Lames et lamelles:**



**Figure 20 :** lames en verre <sup>[52]</sup>

**Microscope optique :**



**Figure 21 :** microscope optique <sup>[53]</sup>

### Portoir pour tubes



**Figure 22** : portoir des tubes de la galerie classique réalisé au laboratoire de microbiologie de l'HIMV Rabat/SOLBI soukaina

### Tube d'eau stérile:



**Figure 23** : Tubes d'eau stériles <sup>[54]</sup>

### Tube à hémolyse :



**Figure 24** : tubes à hémolyses <sup>[55]</sup>

### Étuve 37°C :



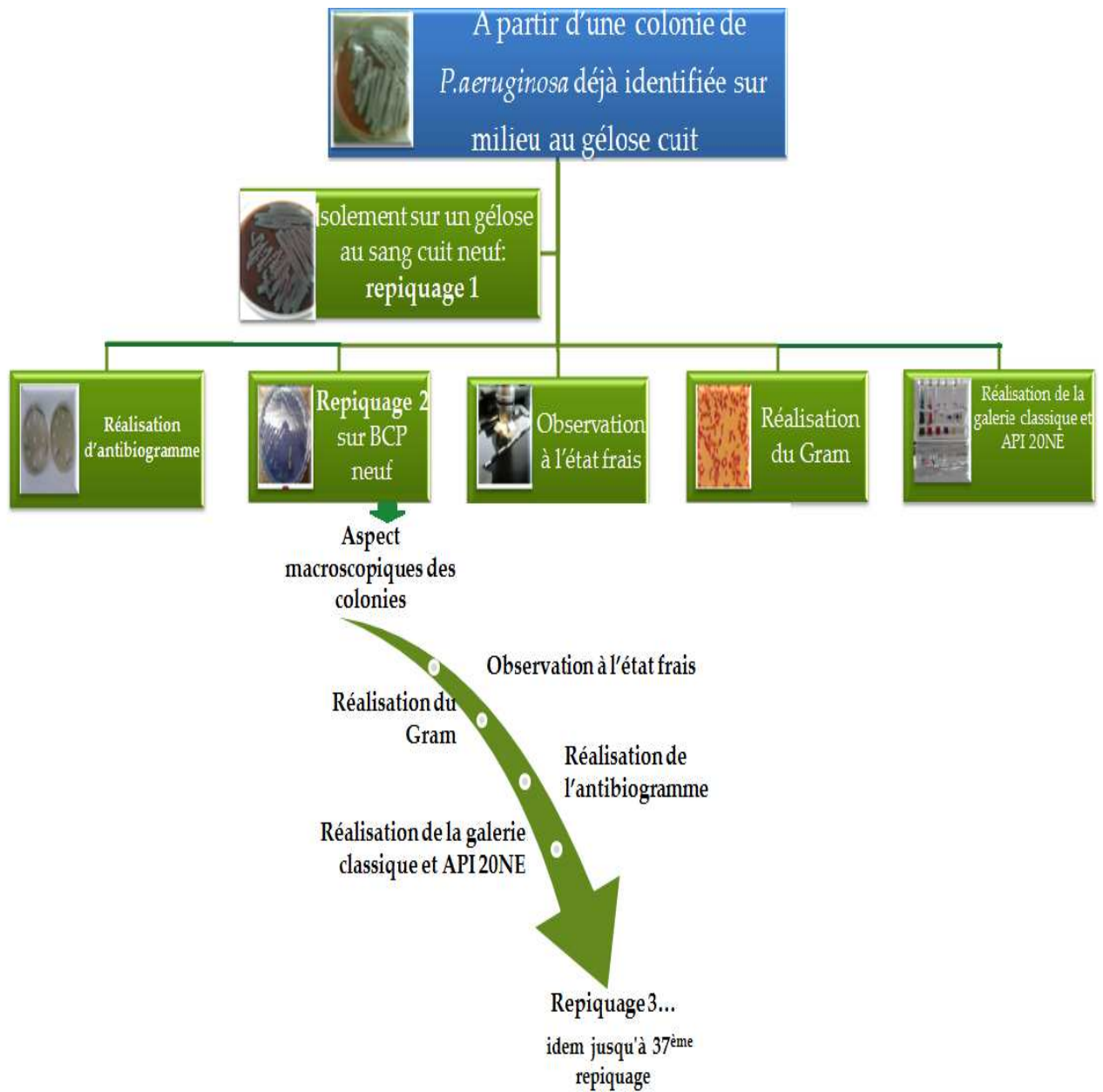
**Figure 25** : étuve d'incubation <sup>[56]</sup>

### Bain marie :



**Figure 26** : bain marie utilisé en bactériologie <sup>[57]</sup>

## III.2 METHODES :



### III.2.1 PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURES :

- BCP et Muller Hinton :

Après avoir pesé correctement une quantité de poudre lyophilisée correspondant au volume désiré. La préparation, la stérilisation et la distribution des milieux de culture dans les boîtes de pétri a été réalisée automatiquement à l'aide de l'appareil de distribution des milieux.

- Milieux de la galerie classique de LeMinor :

Les poudres lyophilisées pesées convenablement et dissoutes dans l'eau distillée sont réparties manuellement dans des tubes à essais qui ensuite sont stérilisés à l'autoclave, et refroidis en fonction de leurs caractéristiques (par exemple le Kligler-Hajna doit être incliné de manière à avoir le culot et la pente alors que le Citrate de Simmons est incliné afin d'avoir uniquement la pente).

NB : La stérilité des milieux de culture avec lesquels nous avons travaillé ont été contrôlés quotidiennement par incubations d'une nuit à 37°C.

### III.2.2 REPIQUAGE :

Le repiquage est l'action de prélever une petite partie d'une bactérie, puis de la transplanter sur un milieu neuf où elle continue à croître.

Dans notre travail on a réalisé plusieurs repiquages :

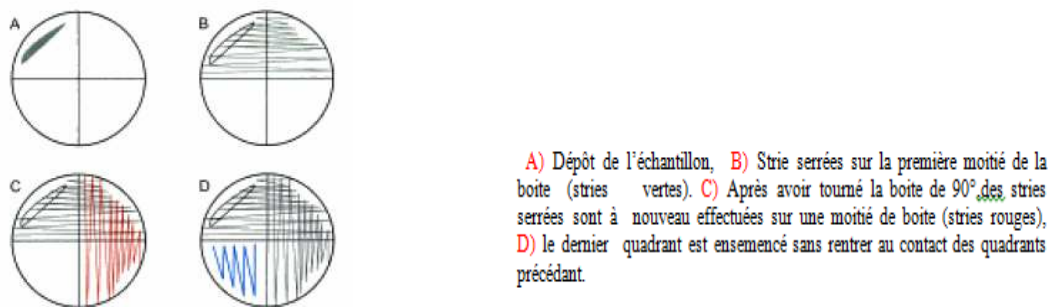
- Le premier a été fait à partir d'une colonie poussée sur milieu gélose au sang cuit - ensemencé à partir d'un prélèvement distal protégé et transplanter sur un milieu neuf de gélose au sang cuit dont le but d'avoir notre bactérie « *Pseudomonas aeruginosa* » bien isoler pour qu'on puisse travailler sur elle.
- Le deuxième repiquage a été réalisé à partir d'une colonie poussée sur la gélose au sang cuit et transplanter sur un milieu neuf de pourpre de bromocrésol (BCP) qui constitue un milieu ordinaire permettant la croissance de *P. aeruginosa*.

- Le troisième repiquage a été réalisé à partir d'une colonie poussée sur le milieu BCP et transplanter sur un milieu neuf BCP.
- Les autres repiquages jusqu'au nombre de 37 ont été fait de la même manière c'est-à-dire d'une colonie poussée sur BCP à un autre milieu neuf BCP..
- Le milieu BCP utilisé durant les 37 repiquages avait la même composition.

### III.2.3 ENSEMENCEMENT :

L'ensemencement consiste à déposer dans un milieu neuf des germes prélevés à partir d'un milieu de culture mère. Il est en général effectué avec une anse en platine ou une pipette Pasteur.

La méthode d'ensemencement utilisée est la méthode d'ensemencement en quadrant selon le schéma suivant :



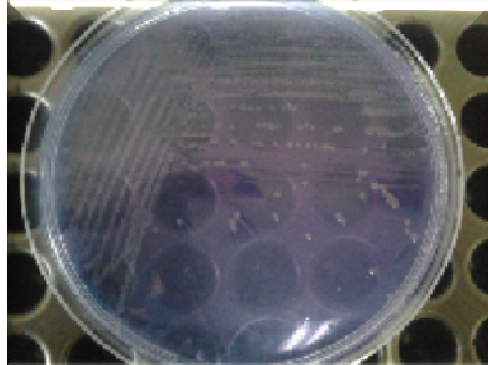
A) Dépôt de l'échantillon, B) Strie serrées sur la première moitié de la boîte (stries vertes). C) Après avoir tourné la boîte de 90°, des stries serrées sont à nouveau effectuées sur une moitié de boîte (stries rouges), D) le dernier quadrant estensemencé sans rentrer au contact des quadrants précédant.

**Figure 27** : méthode d'ensemencement en quadrant <sup>[58]</sup>

Ce mode d'ensemencement permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un mélange. Le dépôt de l'échantillon ou de la suspension de germe est effectué près d'un bord de la boîte de pétri, ou une strie dans un quart de la boîte qui constituera le premier quadrant. Un isolement est effectué à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée à usage unique ou d'une anse en platine (réutilisable) <sup>[58]</sup>.

Que ça soit l'anse ou la pipette pasteur le passage préalable dans la flamme est obligatoire pour éviter toute contamination de notre souche «*P. aeruginosa* ».

Ainsi par cette méthode, le dernier quadrant contient des colonies isolées dont la morphologie permet de s'orienter vers une espèce ou un genre bactérien voire une famille de bactérie. C'est-à-dire à partir de ces colonies isolées que des tests d'identification pourront être pratiqués et la sensibilité aux antibiotiques testés.



**Figure 28** : ensemencement en quadrant d'une souche de *P. aeruginosa* sur BCP au laboratoire de bactériologie, HMIMV-Rabat-2012/SOLBI soukaina

### **III.2.4 INCUBATION :**

En bactériologie l'incubation correspond au passage d'une culture dans une étuve bactériologique à une température et pendant une durée déterminée, afin de conférer aux bactéries les conditions favorables qui leur permet de pousser sur tel ou tel milieu de culture.

Durant notre travail l'incubation des bactéries ensemencées sur milieu gélose au sang cuit ont été incubé à une étuve alimentée de CO<sub>2</sub> avec une température de 37°C pendant 18 heures, alors que les bactéries ensemencées sur milieu BCP ainsi que les galeries API (appareillage et procéder d'identification) 20 NE(NE= Non Entérobactéries) et la Galerie classique (leMinor) ont été incubées à un étuve de 37°C pendant 18 à 24 heures et parfois jusqu'à 48 heures.

### **III.2.5 IDENTIFICATION :**

L'identification des bactéries se fait suivant une clé dichotomique qui va des caractères les plus vastes aux plus pointus pour aboutir à une espèce bactérienne donnée.

#### **III.2.5.1 Aspect macroscopique (colonies)**

Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel on se base est celle de l'aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nue, que ça soit taille, forme du relief (bombée, semi-bombée, plate), couleur, aspect (collant, filamenteux...), odeur, transparence (opaque, translucide), allure des contours (régulier, dentelés), pigmentation, et aspect de la surface (lisse ou rugueuse).

#### **III.2.5.2 État frais entre lame et lamelle**

C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les bactéries sont vivantes, on peut alors déterminer des caractères tels que la morphologie générale, la mobilité et le groupement (bacille ou coque) ainsi que le type de colonies <sup>[3]</sup>.

#### **III.2.5.3 Aspect microscopique (gram)**

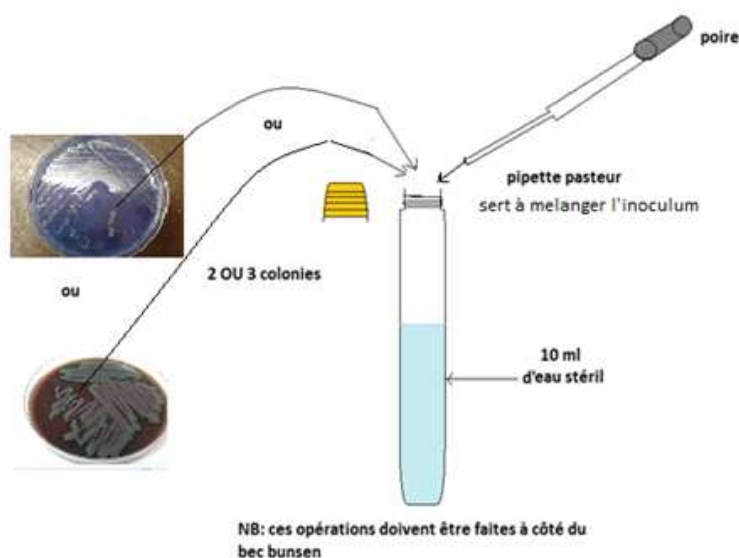
On commence par préparer une suspension enrichie par des colonies de *P. aeruginosa* poussées sur milieu gélose au sang cuit ou sur milieu BCP dans de l'eau stérile, puis on réalise un étalement (réaliser un frottis) sur une lame porte objet en verre qu'il faut sécher d'abord à l'air ensuite à la chaleur du bec bunsen.

Sur le frottis fixé on applique la coloration de gram (violet de gentiane, alcool + acétone, fuchsine), ce frottis une fois séché dans le séchoir, est lu en microscope optique, objectif x100 à l'immersion.

### III.2.5.4 Caractères biochimiques (la galerie classique de leminor)

#### Réalisation de l'inoculum :

Deux ou trois colonies ont été prises à partir de la gélose au sang cuit ou la gélose BCP. Puis elles sont mises dans 10 ml d'eau stérile et mélangées à l'aide de la pipette pasteur menée d'une poire selon la figure suivante :



**Figure 29 :** méthode de réalisation de l'inoculum pour le remplissage de la galerie classique.

#### Milieu Citrate de Simmons :

On ensemence ce milieu directement à partir d'une colonie prélevée sur milieu gélosé (BCP), soit en strie longitudinale, soit en spot, soit les deux à la fois.

En aucun cas, on ne doit se servir d'une culture en bouillon ou en eau peptoné, qui apporterait avec les bactéries des éléments nutritifs susceptibles de fausser les résultats.

#### Milieu Mannitol Mobilité Nitrate:

Ce milieu faiblement gélosé, doit être préalablement régénéré pour chasser l'oxygène. Ce milieu est ensemencé par piqure centrale unique à l'aide d'un fil en platine.

#### **Milieu Lactose-Glucose-H<sub>2</sub>S (Milieu Kligler-HAJNA) :**

Ce milieu est ensemencé par stries serrées sur la pente suivie d'une piqure centrale au niveau du culot.

#### **Milieu CLARK ET LUBS :**

Ce milieu liquide est ensemencé par quelques gouttes de la suspension de *P.aeruginosa*.

Après incubation, on ajoute à notre milieu 2 à 3 gouttes d'un révélateur VP (solution d'alpha naphthol dans l'alcool à 90° + solution aqueuse de soude 4N), la lecture se fait dans les 15 minutes qui suivent.

#### **Milieu LDC (lysine décarboxylase) :**

Ce milieu est préalablement régénéré puis ensemencé au moyen d'un fil de platine par piqure centrale jusqu'au fond du milieu.

#### **Milieu VF (viande foie) :**

Au moment de l'emploi on fait fondre le milieu au bain-marie bouillant et le régénérer pendant 20 minutes. On le laisse refroidir jusqu'à 45°C environ. Puis on plonge l'effilure d'une pipette pasteur fermée et stérilisée par flambage dans une suspension de la bactérie *P. aeruginosa*, on égoutte l'effilure, puis on transporte l'inoculum dans le fond du tube, en remontant et redescendant en exécutant un mouvement de vrille à plusieurs reprises.

#### **Milieu Urée-Indol :**

On ensemence ce milieu directement à partir des colonies de *P. aeruginosa* sur le milieu BCP.

Après incubation on révèle par le réactif Kovacs (prêt à l'emploi) pour mettre en évidence la production d'indole, alors que l'Uréase est mis en évidence par changement de coloration du milieu.

### **III.2.5.5 Caractères biochimiques de la galerie API 20 NE :**

#### ○ **Préparation de l'inoculum :**

Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml). À l'aide d'une pipette ou d'une PSipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique de la gélose au sang cuit ou la gélose BCP par aspirations ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures) <sup>[59]</sup>.

L'inoculum servira au remplissage des microtubes de la galerie API 20 NE.

#### ○ **Le remplissage de la galerie API 20 NE :**

Les alvéoles du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, dans laquelle notre galerie est déposée, le remplissage des microtubes suit des règles bien précises :

- Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit être totalement remplie de manière à créer un ménisque.
- Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), et pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

#### ○ **L'incubation :**

La galerie est incubée à une température de 37°C pendant 24 à 48 heures.

#### ○ **La révélation et la lecture :**

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant.

**Tableau III** : Lecture de la galerie miniaturisée API 20 NE <sup>[59]</sup> :

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	incolore	rose-rouge
			réduction des Nitrates en azote	rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYptoPhane)	incolore vert pâle / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIpique)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CiTrate)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble

### **III.2.5.6 Antibiogramme**

#### **III.2.5.6.1 Définition**

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri <sup>[60]</sup>.

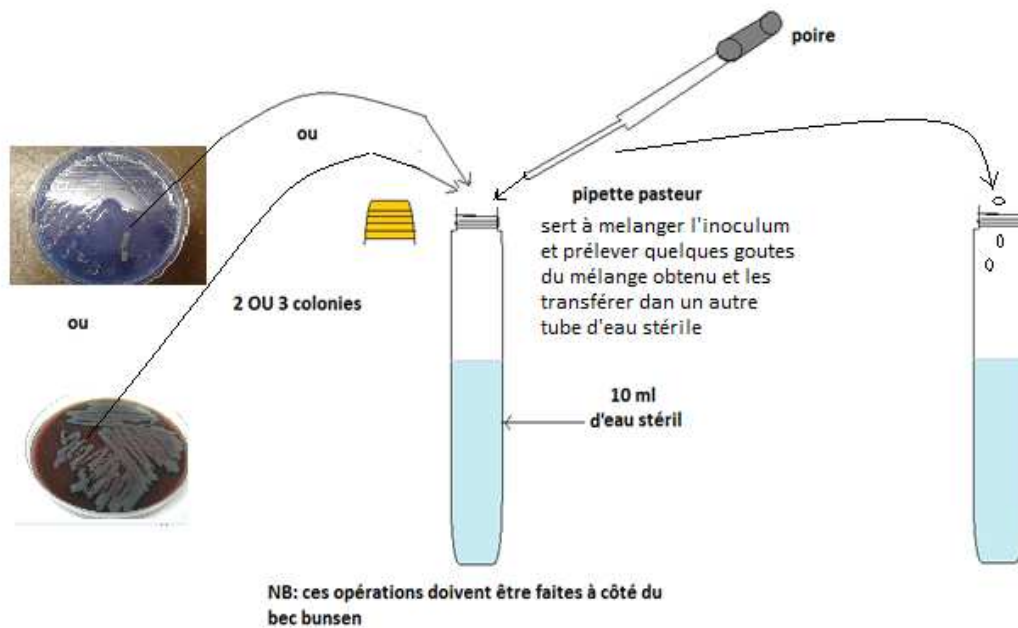
#### **III.2.5.6.2 Réalisation :**

##### **III.2.5.6.2.1 Inoculum :**

Le dôme d'une colonie de *P. aeruginosa* prélevé sur gélose BCP est dissout dans 5 ml d'eau distillée stérile. À l'aide d'une pipette pasteur surmontée d'une poire, nous avons mélangé notre inoculum pour avoir une suspension homogène.

Ensuite nous avons placé 2 à 3 gouttes de cette suspension à l'aide de la même pipette dans un autre tube contenant 5ml d'eau distillée stérile en formant une deuxième suspension moins chargé en *P. aeruginosa*.

C'est cette dernière suspension qui nous a servi d'inoculum pour notre antibiogramme.



**Figure 30** : méthode de réalisation de l'inoculum pour le remplissage de l'antibiogramme.

#### III.2.5.6.2.2 Milieu d'ensemencement :

Le milieu utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme est le milieu Muller-Hinton

#### III.2.5.6.2.3 Technique utilisée d'ensemencement :

L'ensemencement du milieu Muller-Hinton a été fait par inondation, l'excès de l'inoculum est éliminé.

Les boîtes de pétri sont mises en position inclinée pendant 3 à 4 minutes afin d'éliminer tout résidu.

#### III.2.5.6.2.4 Application des disques :

Les disques d'antibiotiques \_contenu dans les cartouches\_ sont déposés sur les boîtes MH préalablement séchées, à l'aide d'une paire de pince flambée et refroidie, tout en respectant la distance de 2 à 2,5 cm entre les disques et 1 cm du bord de la boîte.

### III.2.5.6.2.5 Listes des antibiotiques utilisés :

Les disques des antibiotiques testés pour *P. aeruginosa* sont les suivants :

- Ticarcilline (TIC) : 75  $\mu$  g
- Pipéracilline+tazobactam (TZP) : 75  $\mu$  g/10  $\mu$  g
- Aztéonam (ATM) : 30  $\mu$  g
- Céftazidime (CAZ) : 30  $\mu$  g
- Céfpirome (CPO) : 30  $\mu$  g
- Imipénème (IMP) : 10  $\mu$  g
- Gentamicine (GN) : 15  $\mu$  g
- Tobramycine (TOB) : 30  $\mu$  g
- Amikacine (AK) : 30  $\mu$  g
- Colistine (CT) : 50  $\mu$  g
- Ciprofloxacine (CIP) : 50  $\mu$  g
- Fosfomycine (FOS) : 50  $\mu$  g
- Rifampicine (RD) : 30  $\mu$  g
- Céf sulodine (CFS) : 30  $\mu$  g
- Pipéracilline (PRL) : 75  $\mu$  g
- Céfépime (FEP) : 30  $\mu$  g

### III.2.5.6.2.6 Incubation:

L'incubation des antibiogrammes se fait à 37°C pendant 18-24 heures

### III.2.5.6.3 **Lecture d'antibiogramme :**

La lecture de l'antibiogramme et son interprétation se fait conformément aux recommandations des experts du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM).

Après incubation, autour de chaque un des disques on a soit une pousse bactérienne soit une zone d'inhibition. La mesure du diamètre de ces zones nous permet de déterminer le comportement de *P. aeruginosa* vis-à-vis cet antibiotique dont on détermine si elle est sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

# *IV. RESULTAT*

Durant les 3 mois de notre travail, nous avons effectué 37 repiquages sur une souche bactérienne de *P. aeruginosa* d'un phénotype Imipénème-résistant. Cette souche a été isolée à partir d'un prélèvement distal protégé d'un patient hospitalisé dans le service de réanimation chirurgicale.

Notre travail s'est basé sur l'étude de l'effet de repiquage sur le comportement de *P. aeruginosa* de point de vue :

○ **Macroscopique :**

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe grâce à ses colonies typiques.

Les paramètres ainsi étudiés sont :

- > La pureté : qui montre la présence d'un seul type des colonies correspondant à la souche de *P. aeruginosa*.
- > La viabilité : c'est la capacité d'une bactérie à croître et former une colonie visible sur gélose nutritive, à l'exception des souches viables non cultivables.
- > L'aspect des colonies : taille, surface, forme du relief, et allure de leurs contours.
- > La pigmentation : correspond à la teinte de la colonie.

○ **Microscopique :**

- > A l'état frais entre lame et lamelle : met en évidence la mobilité, et la morphologie des bactéries.
- > Après coloration de Gram : qui met en évidence l'affinité tinctoriale.

○ **Biochimique :**

- > Par la galerie classique basée sur les caractères suivants :
  - l'utilisation du citrate comme seule source de carbone,
  - fermentation de lactose,

- fermentation de glucose,
  - production d'H<sub>2</sub>S, production de gaz,
  - fermentation du mannitol- mobilité-nitrate
  - LDC, VP, Urée, indole et type respiratoire.
- > Par la galerie API 20 NE qui fait appel aux caractères suivants :
- NO<sub>3</sub>, TRP, GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG, GLU, ARA, MNE, MAN, NAG, MAL, GNT, CAP, ADI, MLT, CIT, PAC.
- *Le comportement vis-à-vis certains antibiotiques :*
- ✓ CIP, RD , AK , TOB , CN , CFS , IPM , FOS , CT , TIC , ATM , CAZ , TZP , CPO , PRL , FEP.

## IV.1 LES CARACTERISTIQUES MACROSCOPIQUES DE LA SOUCHE BACTERIENNE

**Tableau IV :** Les caractéristiques macroscopiques de *Pa* cultivée sur milieu BCP après incubation à 37°C. HMIMV. Rabat. 2011/2012

	viabilité des colonies	pureté des colonies	pigmentation des colonies	forme des reliefs des C	allures des contours des C	aspect de la surface des C	tailles des C
Rep 1	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
Rep 2	viables	pures	grisatres	légèrement bombée	irréguliers	métallique	larges
Rep 3	viables	pures	grisatres	légèrement bombée	irréguliers	métallique	larges
Rep 4	viables	pures	grisatres	légèrement bombée	irréguliers	métallique	larges
Rep 5	viables	pures	grisatres	légèrement bombée	irréguliers	métallique	larges
Rep 6	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 7	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 8	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 9	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 10	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 11	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 12	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 13	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 14	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	réduites
Rep 15	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 16	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 17	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 18	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 19	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 20	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 21	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 22	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites

Rep 23	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 24	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 25	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 26	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 27	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 28	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 29	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 30	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 31	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 32	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 33	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 34	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 35	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 36	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites
Rep 37	viables	pures	grisatres	bombée	réguliers	métallique	très réduites

Rep : repiquage      NL : non lu      C : colonies

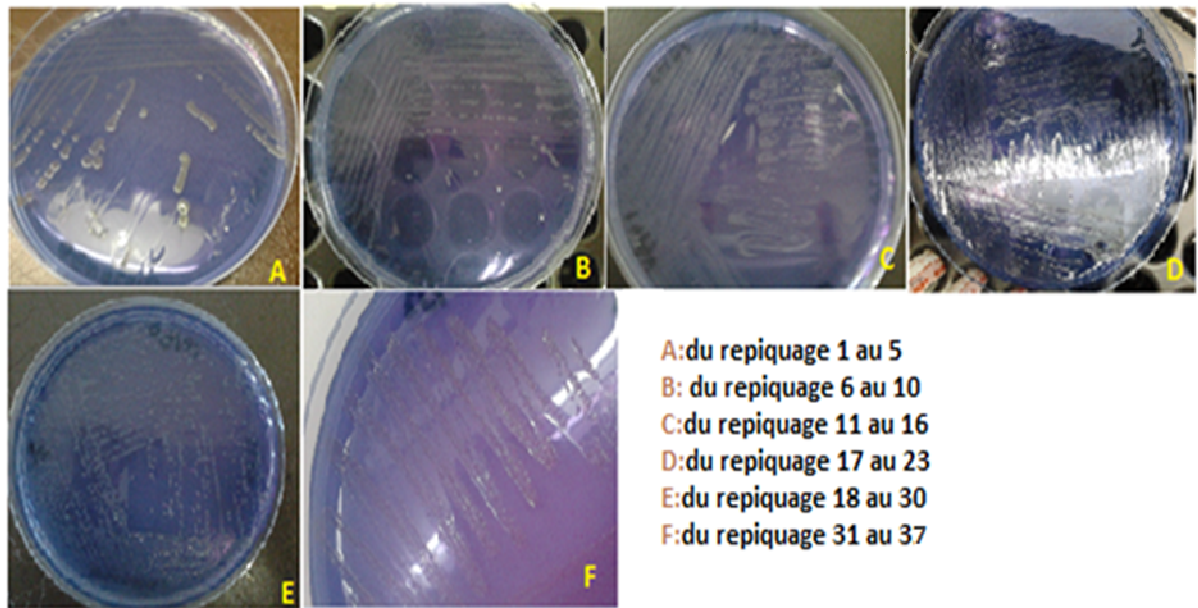
#### IV.1.1 La pureté

*P. aeruginosa* est restée pure durant les 37 repiquages.

#### IV.1.2 La viabilité

Les colonies de *P.aeruginosa* ont demeuré viables jusqu'au dernier repiquage.

### IV.1.3 La forme des colonies :



**Figure 31:** L'aspect des colonies de *P. aeruginosa* après repiquages successifs sur milieu BCP réalisé au laboratoire de microbiologie, HMIMV Rabat-2012-/SOLBI soukaina

#### IV.1.3.1 Allures des contours des colonies:

Du 1<sup>er</sup> au 5<sup>ème</sup> repiquage :

- Les colonies prennent une forme irrégulière qui est généralement la forme caractéristique de *P. aeruginosa*

Du 6<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> repiquage :

- L'obtention de deux types de colonies l'une à bord régulier et l'autre à bord irrégulier.

Du 11<sup>ème</sup> au 37<sup>ème</sup> repiquage :

- L'obtention des colonies à contour régulier.

#### **IV.1.3.2 Forme du relief des colonies :**

Les colonies gardent leurs formes du relief du départ, qui a été convexe, jusqu'au dernier repiquage.

#### **IV.1.4 Aspect de la surface des colonies :**

L'aspect métallique de la surface des colonies a été conservé jusqu'aux 37<sup>ème</sup> repiquages.

#### **IV.1.5 La taille des colonies :**

Du 1<sup>er</sup> au 5<sup>ème</sup> repiquage : les colonies gardent leurs tailles initiales de 3 à 4 mm de diamètre.

Du 6<sup>ème</sup> au 30<sup>ème</sup> repiquage : on observe une diminution de la taille des colonies qui se réduit progressivement.

Du 30<sup>ème</sup> au 37<sup>ème</sup> repiquage : les colonies de *P. aeruginosa* ont pris une taille très réduite.

#### **IV.1.6 La couleur et/ou pigmentation des colonies:**

Les colonies de *P. aeruginosa* ont gardé la même pigmentation durant les 37 repiquages.

### **IV.2 LES CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUES :**

#### **IV.2.1 Les caractéristiques microscopiques à l'état frais :**

*P. aeruginosa* a gardé sa mobilité jusqu'au 37<sup>ème</sup> repiquage.

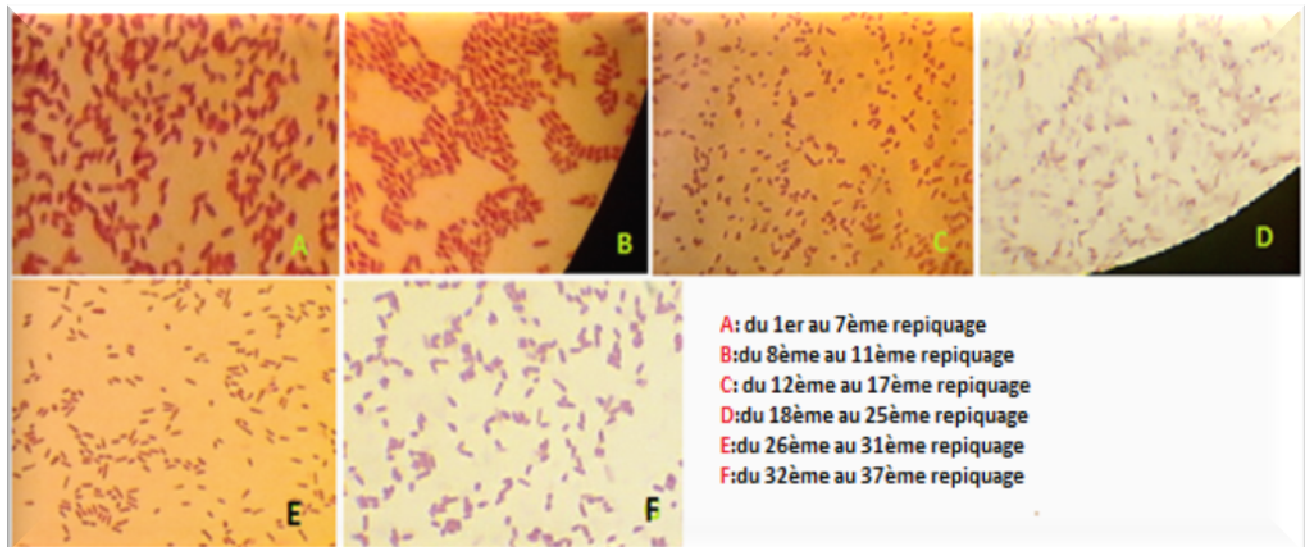
#### **IV.2.2 Les caractéristiques microscopiques après coloration de Gram :**

*P.aeruginosa* est un Bacille à Gram négatif de 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long sur 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de large.

L'aspect du Gram le long des 37 repiquages est le suivant :

- Du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> repiquage : l'aspect de Gram sous microscope optique est monomorphe (Bâtonnets droits de 0,5 à 1,3  $\mu\text{m}$ )

- Du 8<sup>ème</sup> au 11<sup>ème</sup> repiquage : l'apparition des formes coccobacillaires Gram négatifs et des rares cocci gram négatifs à côté des BGN des 1<sup>er</sup> repiquages.
- Du 12<sup>ème</sup> au 17<sup>ème</sup> repiquage : persistance des formes coccobacillaires et de rares cocci, avec apparition des fins BGN différents des premiers BGN qui ont été +/- épais.
- Du 18<sup>ème</sup> au 25<sup>ème</sup> repiquage : on distingue la présence des BGN +/- fins à côté des formes Coccobacillaires.
- Du 26<sup>ème</sup> au 37<sup>ème</sup> repiquage : réapparition des BGN d'allure normale (épais), en plus de l'aspect précédemment cité des coccobacilles Gram négatif et des rares cocci Gram négatifs isolés.

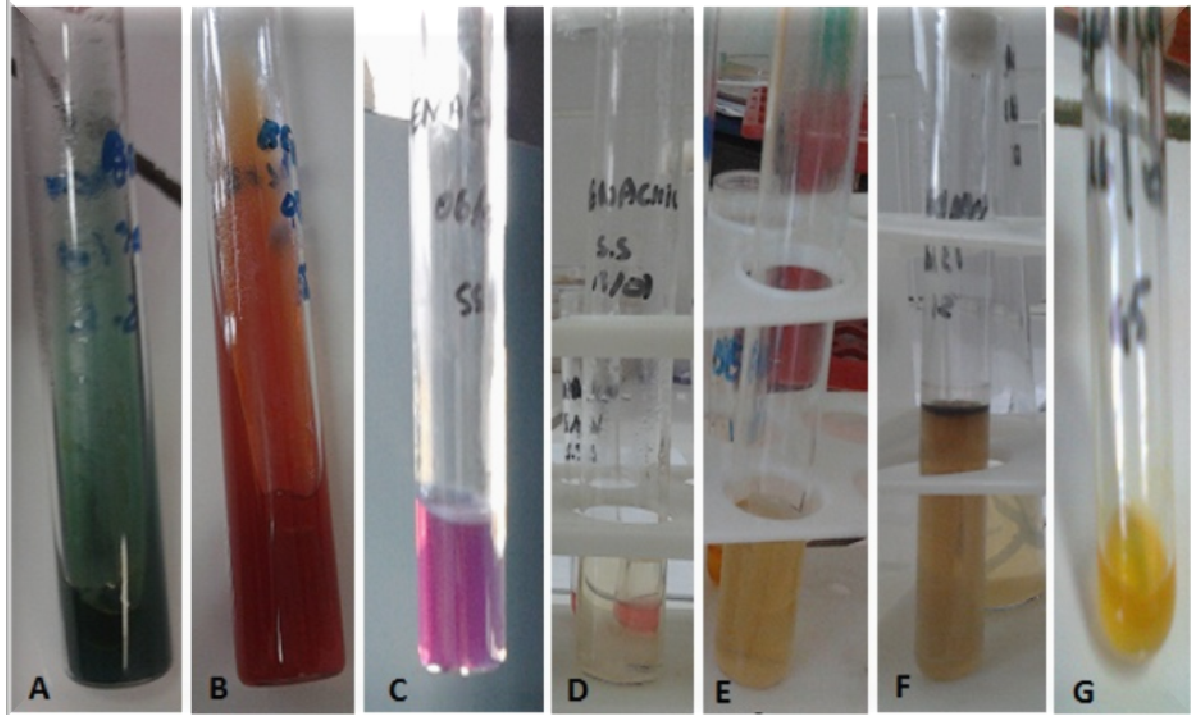


**Figure 32:** Le gram de *P.aeruginosa* après repiquages successifs. Laboratoire de microbiologie, HMIMV Rabat-2012-/SOLBI soukaina

### IV.3 LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES :

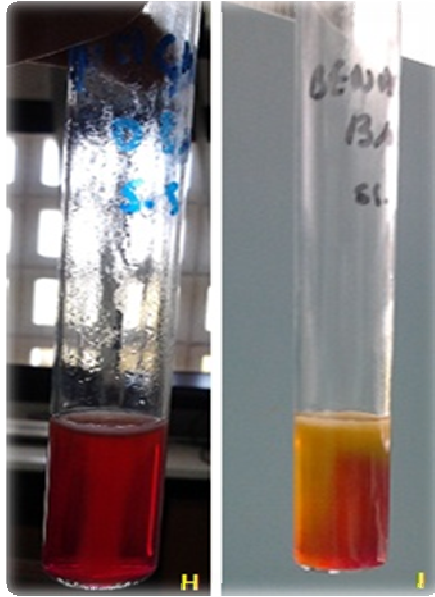
#### IV.3.1 Galerie classique de LeMinor :

Aucune modification des caractères biochimiques de *P. aeruginosa* n'a été observée durant les 37 repiquages. (Tableau V)



**A** : Citrate de Simmons (négatif) **B** : Kligler hajna (négatif) **C** : Lysine décarboxylase (négatif) **D** : Eau péptonée (négatif) **E** : VP (négatif) **F** : VF (aérobic stricte) **G** : Urée indole (négatif)

**Figure 33** : Aspect de la galerie classique de LEMINORensemencée par *P. aeruginosa* après incubation à 37°C, Laboratoire de microbiologie, HMIMV, Rabat / *SOLBI soukaina*



**H** : Mannitol-mobilité (mobilité positive) **I** : Nitrate réductase positive

**Figure 34** : milieu mannitol mobilité ensemencé par *P. aeruginosa*. Laboratoire de microbiologie, HMIMV, Rabat /*SOLBI soukaina*

**Tableau V:** Les paramètres biochimiques de *P. aeruginosa* lus par la galerie classique après incubation à 37°C

	CITRATE DE SIMMONS	KLIGLER HAJNA				MANNITOL MOBILITE		LDC	NITRATE REDUCTASE	UREE/INDOLE	VP	VF( Viande de Foie)
		LACTOSE	GLUCOSE	H2S	GAZ	MANNITOL	MOBILITE					
R4	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R5	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R6	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R7	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R8	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R9	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R10	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R11	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R12	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R13	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R14	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R15	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R16	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R17	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R18	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R19	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R20	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R21	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R22	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R23	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R24	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R25	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R26	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R27	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R28	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R29	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R30	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R31	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R32	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R33	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R34	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R35	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R36	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte
R37	négative	négative				négative	mobile	négative	positive	négative/négative	négative	aérobie stricte

### IV.3.2 Galerie API 20 NE (Non entérobactéries) :

Du repiquage 1 au repiquage 3, les caractères biochimiques de *P. aeruginosa* n'ont pas changé sur la galerie API 20 NE (tableau IV) :

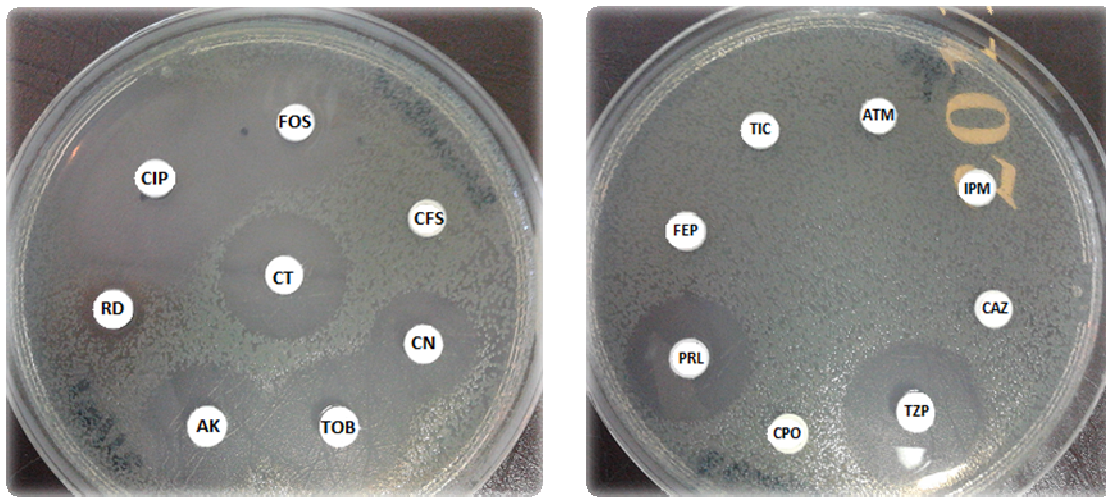
**Tableau VI** Paramètres biochimiques de *P. aeruginosa* sur la galerie API 20 NE après incubation à 37°C

	NO3	TRP	GLU	ADH	UREE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
R1	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
R2	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
R3	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-

**R** : Repiquage (+) : Réaction positive (-) : Réaction négative

#### IV.4 COMPORTEMENT VIS-A-VIS CERTAINS ANTIBIOTIQUES :

Nous avons par la suite testé l'efficacité d'antibiotiques sur les bacilles de notre *P. aeruginosa*. Pour cela nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) ensemencée par inondation d'un inoculum de bacilles prélevés à partir du milieu BCP, on déposera alors les différents disques d'antibiotiques à tester (figure 35) :



**Figure 35:** Antibiogramme de *P. aeruginosa* réalisé au sein de laboratoire de microbiologie. l'HMIMV, Rabat/SOLBI soukaina

- Notre souche de *P. aeruginosa* avait le phénotype d'antibiogramme suivant :

Sensible à : CIP, TOB, GN, CT, TZP, PRL, FOS.

Résistante à : CFS, IPM, TIC, ATM, AK, CAZ, RD, CPO, FEP.

- Les antibiotiques parmi lesquels on a travaillé, sont :

- CIP, RD, AK, TOB, CN, CFS, IPM, FOS, CT, TIC, ATM, CAZ, TZP, CPO, PRL, FEP.

Le comportement vis-à-vis les antibiotiques testés a été conservé jusqu'au dernier repiquage, exception faite pour l'AK vis-à-vis de laquelle *P. aeruginosa* oscille entre résistance et sensibilité à partir du 4<sup>ème</sup> repiquage.

**Tableau VII** Comportement de *P. aeruginosa* vis-à-vis certains antibiotiques.

	CIP	RD	AK	TOB	CN	CFS	IPM	FOS	CT	TIC	ATM	CAZ	TZP	CPO	PRL	FEP
rep 1	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 2	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 3	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 4	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 5	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 6	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 7	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 8	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 9	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 10	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 11	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 12	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 13	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 14	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 15	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 16	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 17	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 18	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 19	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 20	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 21	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 22	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 23	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 24	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 25	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 26	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 27	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 28	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 29	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 30	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 31	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 32	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 33	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 34	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 35	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 36	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
rep 37	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R

**Rep** : Repiquage, **R** : Résistant, **S** : Sensible.

# *V. DISCUSSION*

Dans cette étude, nous avons mis au point une méthode pour évaluer les changements morphologiques, biochimiques, et le comportement vis-à-vis certains antibiotiques d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sous l'effet de plusieurs repiquages successifs.

- ✚ Le premier test réalisé est celui de la pureté qui vise à démontrer l'absence de la contamination de notre souche bactérienne par d'autres bactéries, en effet, malgré le non utilisation d'un milieu sélectif, nous avons réussi à conserver la pureté de notre souche du premier jusqu'au dernier repiquage. et ceci est effectivement lié à notre manière de travailler qui a consisté en :
  - ✓ la décontamination régulière des surfaces des paillasse avec un désinfectant <sup>[61]</sup>,
  - ✓ le lavage des mains avant et après chaque manipulation <sup>[62]</sup>,
  - ✓ le contrôle préalable de la stérilité de tous les milieux de cultures en les maintenant 18 heures à 37°C,
  - ✓ la réalisation de toutes les manipulations à proximité du bec benzène (diamètre du 20 cm) <sup>[63]</sup>,
  - ✓ et la stérilisation de l'anse et de la pipette pasteur avant chaque repiquage et après chaque ensemencement <sup>[64, 65]</sup>.
- ✚ La capacité de former des colonies, de se métaboliser, de croître et de se diviser, est restée constante durant les 37 repiquages successifs, et cela confirme que notre bactérie est demeurée viable durant tout le repiquage vu que le délai qui sépare deux repiquages successifs ne dépassait pas les 4 jours, et que les milieux de cultures utilisés étaient frais, correctement préparés et préalablement acclimatés avant chaque utilisation, ainsi que le refroidissement de l'anse et les pipettes pasteur après stérilisation par la flamme du bec bensen.
- ✚ Après incubation du *P. aeruginosa* sur milieu BCP, les colonies ont pris une pigmentation grisâtre. Cette pigmentation a été conservée durant les 37 repiquages. Ce qui explique que cette dernière n'influence pas ce paramètre.
- ✚ La culture de *P. aeruginosa* sur milieu de culture donne souvent des colonies à contours irréguliers. En effet, durant notre étude, cet aspect a été observé jusqu' à 6<sup>ème</sup>

repiquages, A ce stade, nous avons constaté l'apparition de nouvelles colonies à contours réguliers, qui en dépit de ça, correspondent à *P. aeruginosa*. La totalité des colonies sur BCP ont par la suite acquis ce nouveau caractère jusqu' au dernier repiquage. Cela est probablement lié à la perte, pour la majorité des bactéries, de leur flagelle polaire. La compréhension de cet événement ne peut être apportée que par l'avènement d'autres méthodes :

- Coloration spéciale des flagelles.
  - Biologie moléculaire
  - Ou observation sous microscope à balayage.
- Bien entendu, le repiquage réalisé sur *P. aeruginosa* n'avait d'influence ni sur le relief des colonies, ni sur l'aspect de leurs surfaces.
  - A partir du 5ème repiquage nous avons constaté une réduction de la taille des colonies (1 à 0,5mm du diamètre). Ceci s'explique par le fait que les repiquages successifs induisent l'affaiblissement de la capacité de division par scissiparité, mais cela reste à confirmer par l'utilisation d'un microscope à balayage.
  - Après coloration de gram l'aspect de *P. aeruginosa* vu au microscope optique à l'immersion a été différent d'une série de repiquages à l'autre :
  - Du premier au dixième repiquage la forme de la bactérie n'a pas été influencé, par contre le changement devient évident à partir du 12ème repiquage (apparition des formes coccobacillaires, et des formes Coccoides).
  - Cette détérioration mécanique de la forme ne peut être liée qu'à une agression du peptidoglycane <sup>[66]</sup>.
  - En effet, Le même résultat a été constaté lors d'une étude effectuée à l' l'HMIMV – Rabat-2012 pour déterminer l'effet des repiquages successifs sur le comportement microscopique de *Klebsiella Pneumoniae* où les bacilles gram négatifs de *K. pneumoniae* ont pris des formes coccobacillaires et des formes Coccoides et même des formes allongés à partir du 7ème repiquages.
  - Cela confirme effectivement l'influence des repiquages successifs sur le comportement microscopique des bactéries étudiées.

- En revanche, l'observation de *P. aeruginosa* à l'état frais entre lame et lamelle sous microscope optique à l'immersion a montré que la bactérie a gardé sa mobilité jusqu'au dernier repiquage, ce résultat est confirmé par le trouble obtenu sur milieu mannitol-mobilité durant les 37 repiquages.
- Les paramètres biochimiques de *P. aeruginosa* n'ont pas subi des modifications suite à l'action des repiquages successifs.
- Pourtant les repiquages successifs n'avaient pas d'effet sur le comportement de *P. aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques. L'instabilité des résultats pour l'AK, n'est probablement due qu'à la qualité des disques utilisés, ou à la non standardisation de l'inoculum et/ou au non-respect de la chaîne de froid.

## *VI. Limites*

De nombreux facteurs ont constitué une entrave dans la réalisation de notre travail.

Tout d'abord, la rupture du stock en la galerie API 20 NE lors du 3<sup>ème</sup> repiquage. Ceci nous a conduit à utiliser la galerie classique de LEMINOR. Or cette galerie ne permet pas la mise en évidence de tous les paramètres biochimiques de *P. aeruginosa*.

De plus, l'absence d'un densitomètre qui servirait à la mesure de la densité de l'inoculum pour l'antibiogramme a fait que l'inoculum n'a pas été standardisé et donc le comportement de *P. aeruginosa* vis-à-vis certains antibiotiques n'a pas pu être jugés.

Les délais plus aux moins longs (vacances, week-end) séparant certains repiquages avaient influencé certains paramètres.

Enfin le manque de documentation concernant les repiquages de bactérie, de certains matériaux (microscope électronique, microscope à balayage, thermocycleur, twincubateur), de réactif de biologie moléculaire et du temps ont constitué un obstacle devant l'explication de certains comportements de *P. aeruginosa*.

*VII. PERSPECTIVES  
D'AVENIR*

A la lumière des résultats obtenus durant notre travail, plusieurs constatations ouvrent une issue pour d'éventuels recherches, par exemple :

- La possibilité de préparer un vaccin vivant atténué à partir d'une souche de *P. aeruginosa* : les repiquages successifs sur milieux hostiles peuvent-ils s'avérer bénéfiques pour protéger les patients hospitalisés, essentiellement dans le service de réanimation.
- En comprenant les mécanismes avec lesquels les repiquages successifs agissent sur *P. aeruginosa*, on peut déterminer les points faibles de la bactérie afin de trouver un remède autre que les antibiotiques ; Comme par exemple l'action du repiquage sur la structure et donc sur le peptidoglycane de *P. aeruginosa* correspond également à l'effet des bêtalactamines. Le fait donc de trouver une similitude d'abord entre le repiquage in vivo et in vitro ou une manière de l'exploiter s'avère intéressant.
- Par ailleurs le repiquage peut également servir à l'amélioration de la conservation de souches.

# *VIII. CONCLUSION*

Le repiquage en bactériologie permet d'avoir un nombre élevé de bactéries à partir d'une seule souche de départ. La détermination du comportement des bactéries repiquées successivement, dans les mêmes conditions (milieu de culture, durée et température d'incubation), s'avère donc important.

Les 37 repiquages successifs réalisés sur une souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu, dans des conditions de stérilisation et d'hygiène adéquates, n'ont pas d'influence sur certains paramètres étudiés (pureté, viabilité, aspect des colonies, caractères biochimiques, et antibiogramme). Contrairement à leurs effets sur autres paramètres (la taille des colonies, l'allure des contours des colonies, et la forme de la bactérie vue au microscope optique après coloration de gram. L'explication nécessite des études plus poussés et du matériel plus performant.

Les constatations faites durant notre travail ne représente qu'une issue pour d'éventuelles recherches. Le temps et les moyens nécessaires à l'explication de certains phénomènes notés ont représenté des facteurs limitant pour notre sujet.

Il serait donc impératif d'effectuer d'autres études pour arriver à l'explication des changements notés suite à l'effet des repiquages successifs.

# *RESUMES*

## RESUME

**Titre :** Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques

**Auteur :** Solbi Soukaina

**Mots clés :** Repiquage – *Pseudomonas aeruginosa* – pureté - viabilité.

---

Le repiquage correspond au prélèvement d'une petite partie d'une culture de bactéries pour la transplanter sur un milieu neuf où elle continuera sa croissance. *P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif non fermentant, aérobie stricte. 37 repiquages ont été effectués sur une durée de 3 mois, au cours de laquelle, certains paramètres étudiés n'ont été pas influencés tel que la pureté, la viabilité, l'aspect des colonies sauf l'allure des contours, les caractères biochimiques, et l'antibiogramme à l'exception de l'Amikacine dont l'instabilité est expliquée par la qualité des disques utilisés, la non standardisation de l'inoculum et/ou le non-respect de la chaîne de froid. Contrairement aux autres paramètres tel que : la taille des colonies réduite à partir du 6<sup>ème</sup> repiquage est expliquée par l'influence de ce dernier sur la capacité de division par scissiparité de *P. aeruginosa*. La forme de la bactérie vue au microscope optique après coloration de gram a subi un changement à partir du 8<sup>ème</sup> repiquage par apparition des formes coccobacillaires et Coccoides, suite à une agression mécanique du peptidoglycane. La compréhension de cet événement ne peut être apportée que par des méthodes de biologie moléculaire et par observation sous microscope électronique. La transformation du contour irrégulier des colonies à régulier à partir du 6<sup>ème</sup> repiquage est liée probablement à la perte du flagelle polaire de *P. aeruginosa* le long des repiquages successifs. L'explication de ces changements nécessite des études plus poussées et de matériels plus performants. Le temps et les moyens nécessaires à l'explication de certains phénomènes notés ont représentés des facteurs limitant pour notre sujet. Les constatations ainsi faites durant notre travail représentent une issue pour d'éventuelles recherches.

## SUMMARY

**Title:** the effect of subculturing *Pseudomonas aeruginosa* on morphological and biochemical characters and sensitivity to antibiotics.

**Author:** Solbi Soukaina

**Keywords:** subculturing, *Pseudomonas aeruginosa*, purity, viability.

---

Transplanting is the removal of a small portion of a bacterial culture transplanted to a new medium where it will continue its growth. *P. aeruginosa* is a Gram-negative non-fermenting, strictly aerobic. 37 subcultures were made over a period of 3 months, during which some parameters studied were not influenced as purity, viability, appearance of the colonies except the shape of contours, biochemical characteristics, and susceptibility testing with the exception of amikacin whose instability is explained by the quality of the discs used, the non-standardization of the inoculum and / or non-compliance with the cold chain. Unlike other parameters such as: the size of the colonies decreased from the sixth subculture is explained by the influence of the latter on the ability of division by fission of *P. aeruginosa*. The shape of the bacteria to the microscope after Gram stain has undergone a change from the 8th appearance by planting and coccoid forms coccobacillary following a mechanical aggression peptidoglycan. Understanding of this event may be made by methods of molecular biology and by observation under an electron microscope. The transformation of the irregular contour of the colonies from the 6th regular transplanting is probably related to the loss of the polar flagellum of *P. aeruginosa* along subculturing. The explanation of these changes requires more extensive studies and more efficient equipment. The time and resources necessary to explain certain phenomena have shown marked limiting factors for our subject. Findings made during our work and represent a way for future research.

## ملخص

العنوان: تأثير عملية إعادة زرع الزائفة الزنجارية على مميزاتها المرفولوجية و البيوكيميائية وكذلك على حساسيتها لبعض المضادات الحيوية.

من طرف: صليبي سو كينة

الكلمات الأساسية: إعادة زرع, الزائفة الزنجارية, النقاء, قابلية الحياة.

عملية إعادة الزرع هي أخذ عينة صغيرة من وسط بكتيري ثم نقلها الى وسط اخر حيث أنها تواصل نموها, الزائفة الزنجارية بكتيريا سلبية الغرام غير تخمرية، حيوانية, 37 عملية الزرع نفذت على مدى فترة 3 أشهر، خلالها لم يحدث تغيرات ببعض المعايير مثل النقاء, قابلية الحياة, مظهر المستعمرات باستثناء مظهر حواف المستعمرات, الخاصيات البيوكيميائية, و تأثير بعض المضادات الحيوية باستثناء: الأميكاسين حيث أن عدم استقرارها يعود إما إلى سوء جودة الأفراس المستعملة و\ أو عدم توحيد اللقاح و\ أو عدم مراعاة مبدأ سلسلة التبريد. على عكس معايير أخرى مثل حجم المستعمرات الذي انخفض ابتداء من الزرع السادس ما يفسر تأثير هذا الأخير على قدرة الانقسام بالانشطار للا زائفة الزنجارية, تغير شكل البكتيريا على مستوى المجهر الضوئي بعد تلوين "غرام" ابتداء من إعادة الزرع الثامن تتمثل بظهور أشكال جديدة من بينها: مكورات عصائية, و مكورات, هذا التغيير يرجع إلى هدم البيبتيدوغليكان, لتأكيد ذلك يستوجب استخدام وسائل البيولوجيا الجزيئية و المجهر الإلكتروني. تحول حواف المستعمرات من غير منتظم الى منتظم ابتداء من اعادة الزرع السادسة يعود غالبا الى فقدان السوط القطبي للازائفة الزنجارية, شرح و تفسير كل هذه التغيرات يتطلب دراسات واسعة النطاق و كذا أجهزة أكثر تطوراً. إن ضيق الوقت وعدم التوفر على الوسائل الضرورية شكلت لنا عائق يحول دون إجابة شروح للعديد من الظواهر الملاحظة خلال دراستنا. كل الملاحظات المستخلصة في بحثنا تمثل منبعاً لبحاث قادمة.

# BIBLIOGRAPHIE

- [1] **Place N. Veziris, A. Aubry, W. Sougakoff, C. Truffot-Pernot, V. Jarlier.** Des outils moléculaires dans le diagnostic, Le traitement et L'épidémiologie des infections à Mycobactéries *Med Trop* **2004**; 64 : 243-250.
- [2] <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/repiquage/68391>.
- [3] [www.io-one.fr/rap/microbiologie.pdf](http://www.io-one.fr/rap/microbiologie.pdf)
- [4] **Minchella .A , Molinari .L , Alonso . S , Bouziges . N, Sotto. A , Lavigne .J.-P,** Evolution of antimicrobials resistance against *Pseudomonas aeruginosa* in a French University Hospital between 2002 and 2006, *Pathologie Biologie* 58; **2010**.p.1-6.
- [5] **Pier G,Ramphal R.** *Pseudomonas aeruginosa*. In : **Mandell G, Bennett J, Dolin R, esditors.** Principales and practice of infectious diseases.. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone; **2005**.p. 2587-615.
- [6]. **P.Berthelot et al.** Epidémiologie des infections nosocomiales à *pseudomonas, burkholderia cepacia* et *stentrophomonas maltophilia*.*Pathologie Biologie*.**2005**, 52 :341-348.
- [7]. **K.Faure et al.***Pseudomonas aeruginosa* et surfactant : rôle de SP-A et SPD. *Médecine et maladies infectieuses*. **2006**, 36 : 63-71.
- [8]. **E.Kipnis et al.**Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis.*Médecine et maladies infectieuses*.**2006**, 36 : 78-91.
- [9]. **J.P.Cavallo, M. Carpentier, R,morillon, J.D.Petrognani.** Infections à bacille pyocyanique encyclopédie médico-Chirurgicale.**2003**, 8-025-B-50 : 1-23.
- [10]. **A.Eyquem, J.Alouf, L.Montagnier.** *Traité de microbiologie clinique :quatrième mise à jour et compléments*.**2005**, 238.
- [11]. **M.C.Poly, C.L. Martin, E. Bingen.** *Quentin Bactériologie médicale technique usuelle* **2007**.

[12].<http://www-dsv.cea.fr/dsv/la-dsv/toute-l-actualite/en-direct-des-labos/une-nouvelle-cible-pour-les-antibiotiques>

[13] . **H.Montil,L.Avril,H.Dabernat,F.Denis**. Bactériologie clinique 2<sup>ème</sup> édition, **1992**.

[14]. **F.Bert, E.Maubec et al**.Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with contamination tap water in neurosurgery intensive care unit.*J Hosp Infect* **1998** ; 39.

[15] **A.Ferrouni et al./** Outbreak of nosocomial urinary tract infections due to *Pseudomonas aeruginosa* in a pédiatric surgical unit associated with tap water contamination.*J Hosp Infect* **1998** ; 39(4) :301-7 .

[16].**G.Lilburn, M.George, A.Garrity julia, Bell and Timothy**. Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manuel of systematic bactériologie,second edition. **2004**.

[17] <http://www.bioquell.fr/technology/Microbiologie/pseudomonas-aeruginosa/>

[18] <http://www2.m-techmicro.com/products/chromagar/pseudomonas/>

[19] <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-03-2007.html>

[20] <http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/112-Introduce2.htm>

[21] **M.L.Vasil ; V.A.Ochsner**. The reponse of *Pseudomonas aeruginosa* to iron : genetics, biochemistry and virulence. *Mol Microbiol* **1999**. 34 : 399-413.

[ 22] **M .Feldman, R.Bryan, S. Rajan, L.Scheffler, S .Brunnert, H.Tang et al**. Rôle of flagella in pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* Pulmonary infection. *Infect Immun* **1998** ; 66 ; 43-51.

[23] **N.Hoiby, H .Krogh johassen, C.Moser, Z.Song, O.ciafu, A.Kharazmi**. *Pseudomonas aeruginosa* and the in vitro and the in vivo mode of growth. *Microbs infections* **2001**; 3 : 23-35.

[24] **A.Lazdunski**. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et leur régulation. *Médecine et maladies infectieuses* **1998** ; 28 ; 109-188.

[25] **J.Gellen - Dautremer**. Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* en médecine interne revue rétrospective de 51épisodes, thèse de doctorat en Médecine à Paris.**2007**.

[26] **Y.Rio, P.Pina, F, Jurin, P. Allouch, J.Didion, H. Chardon et al**. Sensibilité de *pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques isolé chez des malades de soins intensifs français

en 1998. Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines, étude ESCRIME ; Pathol Biol **2002** ; 50 : 12-7.

[27] **P. Courvalin**. La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques bulletin Académique France. **2008** N° 1 : 7-12.

[28] [http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c\\_12956/antibiotiques-contrebacteries?portal=j\\_55&printView=true](http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/antibiotiques-contrebacteries?portal=j_55&printView=true)

[29] Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2010.

[30] **D. Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Our Korich**, Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. **2001** N° 91 : 5-8.

[31] **K. Okamoto, N. Gotosh, T. Nishini**. Extrusion of penem antibiotics by multicomponent efflux systems MexAB-OprM, MexCD-OprJ and MexXY-OprM of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother ; **2002** ; 46 : 2696-2699.

[32] **F. Denis, M. Ploy, C. Martin, E. Bingen, R. Quentin**, Bactériologie médicale Techniques usuelles, Edi III : Masson ; **2007** page 15.

[33] [www.dmipfmv.ulg.ac.be/bacvet/m/cours3VMB/TP/milieux.doc](http://www.dmipfmv.ulg.ac.be/bacvet/m/cours3VMB/TP/milieux.doc)

[34] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 27.

[35] <http://romain.ferry.pagesperso-orange.fr/micro/matmicro/micmil/milbcp/bcp00000.htm>

[36] **F. Denis, M. Ploy, C. Martin, E. Bingen, R. Quentin**, Bactériologie médicale Techniques usuelles, Edi III : Masson ; **2007** page 19.

[37] <http://romain.ferry.pagesperso-orange.fr/micro/matmicro/micmil/milcits/cit0000.htm#lect>

[38] <http://romain.ferry.pagesperso-orange.fr/micro/matmicro/micmil/milcits/cit0000.htm#lect>

[39] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 78.

[40] <http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/D5D9F075857C0657C12574B4002A40BF?Opendocument>.

[41] **F. Denis, M. Ploy, C. Martin, E. Bingen, R. Quentin**, Bactériologie médicale Techniques usuelles, Edi III : Masson ; **2007** page 23.

- [42] <http://www.microbe-edu.org/glossaire/detail.cfm?cle=281>.
- [43] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 98.
- [44] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 202.
- [45] [http://vdmroubaix.com/technobio/index.php?option=com\\_joomgallery&func=viewcategory&catid=3&Itemid=24](http://vdmroubaix.com/technobio/index.php?option=com_joomgallery&func=viewcategory&catid=3&Itemid=24).
- [46] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 76.
- [47] API 20 NE, REF 20 050, Biomériaux SA, 07615 J - FR - 2006/02, p :1-3
- [48] [http://www.fr.fishersci.com/home/FFR\\_FR/microbiologie/sterilisation.html](http://www.fr.fishersci.com/home/FFR_FR/microbiologie/sterilisation.html)
- [49] <http://boutique.nhbio.com/Boite-de-petri-diam-90mm-aseptique-couvercle-3-ergots>
- [50] [microbiology-loop-thumb13607430.jpg](#)
- [51] <http://fr.academic.ru/dic.nsf/frwiki/1340197>
- [52] <http://www.hellopro.fr/lames-et-lamelles-1001514-fr-1-feuille.html>  
<http://www.materiel-medical-montpellier.fr/produits/diagnostic/microscope/>
- [53] [http://bio-usto.oldiblog.com/designs/design2/include/print\\_article.php?id=1567051&co=2](http://bio-usto.oldiblog.com/designs/design2/include/print_article.php?id=1567051&co=2)
- [54] <http://www.web-sciences.com/documents/premiere/pedo12/petp1201.php>
- [55] <http://www.dutscher.com/frontoffice/produitDisplay.do?produitId=0M-10-11>
- [56] <http://www.allsciences.com/catalogue/10-multilabo/4-materiel-scientifique/180-etuves/2910-etuve-bacteriologique-memmert/p-13495-etuve-bacteriologique-memmert-32-1.html>
- [57] <http://www.labomoderne.com/gamme.Bains.BMS6.html>
- [58] **F. Denis, M. Ploy, C. Martin, E. Bingen, R. Quentin**, Bactériologie médicale Techniques usuelles, Edi III : Masson ; **2007** page 20.

[59] API 20 NE, REF 20 050, Biomériaux SA, 07615 J - FR - 2006/02, p :1-3

[60] <http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=1002>Source: Wikipédia publiée sous licence CC-BY-SA 3.0.)

[61] Organisation Mondiale de la Santé. Laboratory biosafety manual , 2ème édition. Genève : OMS ; 1993 : ISBN 92 4 154450 3.

[62] **A.Meyer, J.Deiana, A.Bernard.** Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figirella et A. Calas : Doin ; **2004**, page 409.

[63] <http://georges.dolisi.free.fr/Microbio/Sterilisation.htm>.

[64] **Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton.** Microbiologie 3ème édition, bruxelle : **2010** ; Boeck, page 118.

[65] **A.Meyer, J.Deiana, A.Bernard.** Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figirella et A. Calas : Doin ; **2004**, page137.

[66] **A. Meyer, J.Deiana, A.Bernard.** Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figirella et A.Calas : Doin ; **2004** page 28.

## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

## قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم باللَّهِ العَظِيمِ

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترف.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو احتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

" والله على ما أقول شهيد "

جامعة محمد الخامس - السويسي -  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 06

سنة: 2013

**تأثير عملية إعادة زرع الزائفة الزنجارية على مميزاتها  
المرفولوجية و البيوكيميائية وكذلك على حساسيتها  
لبعض المضادات الحيوية**

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

**الآنسة: سوكينة صلبي**

المزودة في 19 ماي 1988 بمشروع بلقصييري

**لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة**

الكلمات الأساسية: إعادة زرع - الزائفة الزنجارية - النقاء - قابلية الحياة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرفة

أعضاء

السيد : ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء المجهرية

السيدة: سوكينة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء المجهرية

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيدة: فاطمة جابوريك

أستاذة في طب الاطفال