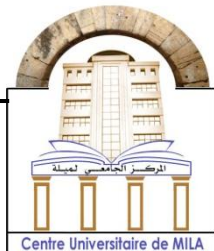


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

**Etude des *Pseudomonas* isolées de viandes dans la wilaya de Mila :
dénombrement, identification et résistance aux antibiotiques**

Présenté par :

- Namous Lamis
- Dermouchi Khawla

Devant le jury :

Medjani Somia	MCB	Présidente
Ahmed Gaid Kelthoum	MCB	Examinatrice
Nouichi Siham	MCA	Promotrice

Année Universitaire : 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Avant tout, nous exprimons notre profonde gratitude envers Dieu Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la santé, la volonté et, surtout, la patience pouvoir achever ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères vont à Madame Dr Nouichi Siham, pour avoir accepté de diriger ce travail. Nous la remercions chaleureusement pour sa disponibilité, ses précieux conseils, son accompagnement constant, ainsi que pour son soutien aussi bien moral que matériel tout au long de cette étude. Sa rigueur scientifique et son encadrement bienveillant ont été d'une aide inestimable.

Nous exprimons également notre reconnaissance à l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie, pour leur accueil, leur assistance et leur précieuse collaboration durant la phase expérimentale de ce travail.

Nous remercions également les membres du jury : Madame Dr Medjani Somia, présidente du jury, et Madame Dr Ahmed Gaid Kelthoum, examinatrice, pour l'honneur qu'elles nous font en acceptant d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour l'intérêt qu'elles portent à notre travail.

Enfin, nous remercions toute personne qui a contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail par leur soutien, leurs encouragements ou leurs conseils.



Dédicace

À mes chers parents,

*Pour tout leur amour, leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements,
qui m'ont permis d'avancer et de toujours donner le meilleur de moi-même.*

À mes chers frères et sœurs,

Pour leur présence rassurante et leur soutien constant.

À toute ma famille,

Pour leur affection et leurs prières.

À mon partenaire, Lamis,

*Mon ami et compagnon, qui a été la lumière sur mon chemin et le soutien dont j'ai eu besoin
à chaque étape.*

Merci pour ces cinq années de fidélité, de complicité et de partenariat inoubliables.

À mes amies Halima, Kholoud, Manal

Merci pour votre présence, votre bienveillance et votre soutien sincère.

*Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités, et à tous ceux qui me connaissent. A
tous ceux que j'aime, merci d'avoir partagé avec moi un jour important que j'attendais avec
impatience depuis mon enfance.*

Khawla



Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents,

Pour leur soutien constant, leur amour inconditionnel et leurs mots d'encouragement.

Chaque ligne, chaque mot, chaque lettre de ce mémoire porte l'empreinte de ma gratitude, de mon respect et de mon estime envers vous.

En hommage à tous les sacrifices que vous avez consentis tout au long de mes années d'études, je vous dis merci du fond du cœur.

Que Dieu Tout-Puissant vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes chères sœurs et à mes adorables frères,

Merci pour votre présence à mes côtés, pour vos encouragements et votre affection.

À toute ma famille,

À Khawla, ma collègue,

Merci du fond du cœur pour ton soutien tout au long de ce travail. Je ne saurais jamais exprimer pleinement ma reconnaissance pour ton aide précieuse.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont soutenu(e), encouragé(e) ou aidé(e) durant ce parcours,

Recevez ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

Enfin, merci à tous ceux qui ont partagé avec moi ce jour si important, attendu depuis mon enfance.

Lamis

Résumé

Cette étude a porté sur l'analyse microbiologique de 30 échantillons de viandes rouges et blanches issues du commerce local, dans le but d'évaluer la contamination par les bactéries du genre *Pseudomonas spp.*, en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que leur profil de résistance aux antibiotiques. Les résultats ont révélé une contamination globale moyenne de $1,2 \times 10^6$ UFC/g, dépassant les seuils réglementaires, avec une non-conformité plus marquée dans la viande blanche ($2,3 \times 10^6$ UFC/g) comparée à la viande rouge ($1,3 \times 10^5$ UFC/g).

L'espèce *P. aeruginosa* a été présomptivement identifiée dans 26,7 % des échantillons, dont 46,7 % des viandes blanches et 6,7 % des viandes rouges. Les tests d'antibiosensibilité ont mis en évidence une résistance préoccupante aux β -lactamines, notamment aux carbapénèmes (100 %) et aux céphalosporines (62,5 %), tandis que les fluoroquinolones et les aminosides ont montré une efficacité complète. La colistine, pourtant antibiotique de dernier recours, a présenté une résistance dans 25 % des cas.

Ces résultats soulignent l'existence d'un risque sanitaire lié à la présence de bactéries opportunistes multirésistantes dans les produits carnés, en lien probable avec des pratiques d'hygiène déficientes et un usage non contrôlé des antibiotiques en production animale. Ils mettent en évidence l'urgence de renforcer les mesures de contrôle sanitaire tout au long de la chaîne alimentaire.

Mots-clés : *Pseudomonas aeruginosa*, viande blanche, viande rouge, contamination bactérienne, antibiorésistance, sécurité alimentaire.

ملخص

ركزت هذه الدراسة على التحليل الميكروبيولوجي لـ 30 عينة من اللحوم الحمراء والبيضاء المأخوذة من الأسواق المحلية، بهدف تقييم التلوث بالبكتيريا من جنس *Pseudomonas spp.*، خاصة *Pseudomonas aeruginosa*، بالإضافة إلى دراسة نمط مقاومتها للمضادات الحيوية. كشفت النتائج عن مستوى تلوث عام متوسط بلغ 1.2×10^6 وحدة تكوين مستعمرات/غرام، متجاوزًا الحدود التنظيمية، مع تسجيل نسبة عدم مطابقة أعلى في اللحوم البيضاء (2.3×10^6 وحدة/غرام) مقارنة باللحوم الحمراء (1.3×10^5 وحدة/غرام).

تم تحديد *P. aeruginosa* بشكل مبدئي في 26.7% من العينات، منها 46.7% في اللحوم البيضاء و6.7% في اللحوم الحمراء. أظهرت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية مقاومة مثيرة للقلق تجاه مضادات البيتا-لاكتام، خاصة الكاربابينيمات (100%) والسيفالوسبورينات (62.5%)، بينما أظهرت الفلوروكينولونات والأミノغليكوزيدات فعالية كاملة. أما الكوليستين، وهو مضاد يُستخدم كخيار أخير، فقد سُجلت مقاومة له في 25% من الحالات.

تُبرز هذه النتائج وجود خطر صحي ناتج عن تواجد بكتيريا انتهازية متعددة المقاومة في منتجات اللحوم، ويُرجح أن يكون ذلك مرتبطًا بممارسات النظافة غير الكافية والاستخدام غير المنضبط للمضادات الحيوية في تربية الحيوانات. وتشير النتائج إلى ضرورة تعزيز إجراءات الرقابة الصحية على طول سلسلة الإنتاج والتوزيع الغذائي.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas aeruginosa*، اللحوم البيضاء، اللحوم الحمراء، التلوث البكتيري، مقاومة المضادات الحيوية، سلامة الغذاء.

Abstract

This study focused on the microbiological analysis of 30 samples of red and white meat collected from local markets, aiming to assess contamination by bacteria of the *Pseudomonas* spp. genus, particularly *Pseudomonas aeruginosa*, as well as their antibiotic resistance profiles. The results revealed an average overall contamination level of 1.2×10^6 CFU/g, exceeding regulatory thresholds, with higher non-compliance observed in white meat (2.3×10^6 CFU/g) compared to red meat (1.3×10^5 CFU/g).

The species *P. aeruginosa* was presumptively identified in 26.7% of the samples, including 46.7% of white meat and 6.7% of red meat. Antibiotic susceptibility testing revealed alarming resistance to β -lactams, particularly carbapenems (100%) and cephalosporins (62.5%), while fluoroquinolones and aminoglycosides showed full efficacy. Colistin, although considered a last-resort antibiotic, exhibited resistance in 25% of the isolates.

These findings highlight a health risk associated with the presence of opportunistic multidrug-resistant bacteria in meat products, likely linked to poor hygiene practices and uncontrolled antibiotic use in animal production. The results underscore the urgent need to reinforce sanitary controls throughout the food production and distribution chain.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, white meat, red meat, bacterial contamination, antibiotic resistance, food safety.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

ملخص

Abstract

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre 1: Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa*

1. Historique 4

2. Habitat 4

3. Classification 4

4. Bactériologie de *Pseudomonas aeruginosa* 5

4.1. Caractères morphologiques 5

4.2. Caractères culturels 6

4.3. Caractères biochimiques 7

4.4. Caractères génomiques 7

4.5. Caractères antigéniques 8

5. Pouvoir pathogène 8

6. Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa* 8

7. *Pseudomonas aeruginosa* est un formateur de biofilm typique 9

8. Disponibilité de *Pseudomonas aeruginosa* dans les aliments 10

Chapitre 2: La résistance aux antibiotiques

1. Historique 12

2. Définition des antibiotiques	13
3. Caractéristiques des antibiotiques	13
4. Origine des antibiotiques.....	13
5. Les principales classes d'antibiotiques	14
5.1. Les bétalactamines.....	15
5.2. Les aminosides (ou aminoglycosides).....	15
5.3. Les quinolones.....	15
5.4. Les sulfamides et le triméthoprim	15
5.5. Les macrolides, lincosamides et synergistines	16
5.6. Les tétracyclines	16
6. Modes d'action des antibiotiques.....	16
6.1. Inhibition de la réplication de l'ADN.....	17
6.2. Inhibition de la biosynthèse des protéines	17
6.3. Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	17
6.4. Inhibition du métabolisme de l'acide folique	17
7. La résistance aux antibiotiques	18
7.1. Définition.....	18
7.2. Les types de résistance	18
7.2.1. La résistance naturelle (ou intrinsèque)	18
7.2.2. La résistance acquise.....	18
7.2.3. La multi-résistance	19
8. Les mécanismes de résistance microbienne aux antibiotiques.....	19
8.1. Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques	19
8.2. Résistance par modification de la cible	20
8.2.1. Modification des PLP	20
8.2.2. Modification de la cible ribosomale	20

8.2.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques.....	21
8.3. Efflux actif.....	21
9. Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	22
9.1. Résistance intrinsèque	22
9.2. Résistance acquise	23
9.3. Résistance adaptative.....	23

Chapitre 3:Matériels et méthodes

Objectifs	26
1. Matériel et Méthodes.....	26
1.1. Matériel.....	26
2 Méthode.....	26
2.1. Échantillonnage	26
2.2. Analyses microbiologiques.....	27
2.2.1. Dénombrement du genre <i>Pseudomonas</i>	27
2.2.1.1. Prise d'essai, suspension mère	27
2.2.1.2. Préparation des dilutions	27
2.2.1.3. Ensemencement et incubation	28
2.2.1.4. Comptage et sélection des colonies.....	28
2.2.1.5. Confirmation du genre <i>Pseudomonas</i>	29
2.2.1.6. Expression des résultats	32
2.2.2. Identification présomptive de l'espèce <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
2.2.2.1. Test de réduction des nitrates	33
2.2.2.2. Utilisation de l'acétamide.....	34
2.2.2.3. Test Mannitol-mobilité.....	34
2.2.2.4. Test de citrate de Simmons	35
2.2.2.5. Tests uréase et TDA	36

2.2.2.6. Activité arginine dihydrolase (ADH)	37
2.2.2.7. Production de fluorescéine sur milieu King B	38
2.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)	39
2.2.3.1. Molécules d'antibiotiques testées.....	39
2.2.3.2. Technique	40
2.2.3.3. Lecture des résultats	42
 Résultats et discussion	
Résultats	44
1. Dénombrement de <i>Pseudomonas</i> spp	44
1.1. Viande blanche	44
1.2. Viande rouge.....	46
2. Identification de l'espèce <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
3. Résultats de l'antibiogramme.....	48
Discussion	50
Conclusion	57
Références	60
Annexes	

Liste des abréviations

- °C : Degré Celsius
- µm : Micromètre
- **16S** : Gène codant pour l'ARN ribosomique 16S, utilisé pour l'identification bactérienne
- **30S** : Sous-unité 30S du ribosome
- **50S** : Sous-unité 50S du ribosome bactérien
- **ADH** : Arginine Dihydrolase (enzyme hydrolysant l'arginine)
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **AK** : Amikacine (aminoside)
- **AMEs** : Aminoglycoside Modifying Enzymes (enzymes modifiant les aminosides)
- **API** : Analytical Profile Index (système d'identification biochimique manuelle)
- **API 20 NE** : Système d'identification bactérienne non-entérobactérienne à base de tests biochimiques standardisés
- **ARN** : Acide Ribonucléique
- **ARNm** : ARN messenger
- **ARNr** : ARN ribosomal
- **ARNt** : ARN de transfert
- **ATP** : Adénosine Triphosphate
- **Aw** : Water activity (activité de l'eau, indicateur de disponibilité de l'eau pour les micro-organismes)
- **AZT** : Aztréonam (antibiotique de la famille des monobactames)
- **BGNF** : Bacilles à Gram Négatif Non Fermentatifs
- **BSE** : Bovin Spongiforme Encéphalopathie (préciser si utilisé dans ton contexte)
- **CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (organisme français de recommandations en antibiogramme)
- **CAZ** : Ceftazidime (céphalosporine de 3e génération)
- **CFU** : Colony Forming Unit (unité formant colonie)
- **CIP** : Ciprofloxacine (fluoroquinolone)
- **CLSI** : Clinical Laboratory Standards Institute (organisme qui établit des normes pour les tests microbiologiques)

- **CN** : Gentamicine (aminoside)
- **COL** : Colistine (polymyxine, antibiotique de dernier recours)
- **D-alanyl-D-alanine** : Dipeptide naturel ciblé par les bêta-lactamines
- **EPS** : Substances Polymériques Extracellulaires
- **Gram -** : Gram négatif
- **H** : Antigène flagellaire
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- **I** : Intermédiaire
- **IND** : Indénombrable (charge bactérienne trop élevée pour être quantifiée)
- **IPM** : Imipénème (antibiotique de la famille des carbapénèmes)
- **ISO** : International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation)
- **L** : Type de colonie large
- **LEV** : Lévofoxacine (fluoroquinolone)
- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **M** : Type de colonie muqueuse
- **M** : Valeur maximale (au-delà de laquelle l'échantillon est non conforme)
- **m** : Valeur seuil (charge microbienne acceptable selon la réglementation)
- **MBL** : Métallo-β-lactamases (enzymes dégradant les β-lactamines)
- **MDR** : MultiDrug Resistant (souche multirésistante)
- **MEVAG** : Milieu Eaux Verts Algues Glucose
- **mL** : Millilitre (unité de volume)
- **mm** : Millimètre (unité de mesure de longueur, utilisée pour les diamètres d'inhibition)
- **N₂** : Azote gazeux
- **NAG** : N-acétylglucosamine
- **NAM** : N-acétylmuramique
- **NH₃** : Ammoniac
- **nm** : Nanomètre (unité de longueur utilisée pour la longueur d'onde de la lumière, ici 625 nm pour la mesure spectrophotométrique)
- **NO₂⁻** : Ion nitrite
- **NO₃⁻** : Ion nitrate

- **O** : Antigène somatique
- **OD** : Optical Density (densité optique)
- **OMP** : Outer Membrane Proteins (Protéines membranaires externes)
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **PBP** : Protéines de Liaison à la Pénicilline (Penicillin-Binding Proteins)
- **PBS** : Phosphate Buffered Saline (solution tampon phosphate saline)
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)
- **Pel** : Polysaccharide pelliculaire
- **PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines
- **Psl** : Polysaccharide synthase locus
- **R** : Résistant
- **R-SO₂-NR₂** : Groupe chimique sulfonamide (structure chimique des sulfamides)
- **S** : Sensible
- **S** : Type de colonie small
- **SDR** : Specific Drug Resistance (résistance spécifique à certains médicaments)
- **SPP.** : Species pluralis, espèces au pluriel
- **T3SS** : Type III Secretion System
- **T4SS** : Type IV Secretion System
- **T6SS** : Type VI Secretion System
- **TDA** : Tryptophane Désaminase (enzyme impliquée dans la désamination du tryptophane)
- **TOB** : Tobramycine (aminoside)
- **TSA** : Trypticase Soy Agar (Gélose Trypticase Soja)
- **TSE** : Tryptone-Sel-Eau (diluant utilisé pour suspension bactérienne)
- **TSI** : Triple Sugar Iron (milieu de culture utilisé pour tests biochimiques)
- **UFC/g** : Unité Formant Colonie par gramme
- **UV** : Ultraviolet
- **WRC** : Viande Rouge Commercialisée (selon contexte)

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Figure 2 : Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
Figure 3 : Chronologie des découvertes d'antibiotiques	12
Figure 4 : Origines et diversité des antibiotiques : des sources naturelles aux dérivés synthétiques.	14
Figure 5 : Classes principales d'antibiotiques et leurs structures chimiques générales.....	14
Figure 6 : Principaux sites d'action des antibiotiques.	18
Figure 7 : Résistance par production d'enzymes.	20
Figure 8 : Résistance par le biais d'un efflux actif du système	22
Figure 9 : Représentation schématique des mécanismes de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
Figure 10 : Préparation de la solution mère	27
Figure 11 : Etapes de préparation des dilutions décimales.	28
Figure 12 : Différents aspects de colonies suspectes de <i>Pseudomonas</i>	29
Figure 13 : Aspect microscopique des bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> après coloration de Gram (G x100).	30
Figure 14 : Test oxydase	30
Figure 15 : Test catalase.....	31
Figure 16 : Test TSI	31
Figure 17 : Test de nitrate	33
Figure 18 : Test d'utilisation de l'acétamide.....	34
Figure 19 : Lecture du test mannitol- mobilité.....	35
Figure 20 : Réaction du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans le milieu mannitol-mobilité	35
Figure 21 : Test de citrate de Simmons.....	36
Figure 22 : Test de l'uréase.	36
Figure 23 : Test de TDA négatif	37

Figure 24 : Test ADH.....	38
Figure 25 : Chambre UV	38
Figure 26 : Recherche de pigments fluorescents sur le milieu King B	39
Figure 27 : Préparation de la suspension bactérienne	41
Figure 28 : Application des disques d’antibiotiques sur la gélose Muller-Hinton.....	41
Figure 29 : Mesure des diamètres d’inhibition autour des disques d’antibiotiques.	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de <i>P. aeruginosa</i>	5
Tableau 2 : Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas</i> selon le CLSI (2024).....	40
Tableau 3 : Taux de contamination en <i>Pseudomonas</i> spp des échantillons de viande blanche	45
Tableau 4 : Taux de contamination en <i>Pseudomonas</i> spp des échantillons de viande rouge .	47
Tableau 5 : Fréquence d'isolement des souches présumptives <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Tableau 6 : Interprétation des diamètres d'inhibition (mm) des souches présumptives de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon CLSI (2024)	49
Tableau 7 : Profils de résistance par souche	50

INTRODUCTION

Introduction

Pseudomonas aeruginosa a été décrite pour la première fois en 1882 par le pharmacien français Carle Gessard, qui observait une coloration bleue-verte des pansements, probablement due à la pyocyanine, un pigment toxique à propriétés antimicrobiennes (Diggle et Whiteley, 2020).

Pathogène opportuniste, elle figure parmi les trois principales causes d'infections opportunistes chez l'humain, touchant chaque année plus de 2 millions de patients et provoquant environ 90 000 décès (Li *et al.*, 2023).

En outre, l'adaptabilité métabolique de cette bactérie lui permet de coloniser des niches écologiques diverses, y compris les environnements agroalimentaires. En raison de sa capacité à sécréter des enzymes extracellulaires, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie couramment impliquée dans l'altération des aliments, en particulier ceux à forte teneur en eau et riches en nutriments (Li *et al.*, 2023). Dans le secteur de la viande, des conditions d'hygiène dégradées, un environnement de transformation insalubre, ainsi que le manque de formation des bouchers aux bonnes pratiques sanitaires facilitent sa prolifération (Bantawa *et al.*, 2018). Sa capacité à former des biofilms sur les surfaces et sa tolérance au froid lui permettent de persister dans les environnements réfrigérés, contaminant ainsi les carcasses et les produits carnés transformés (Ma *et al.*, 2022). Ces caractéristiques en font à la fois un agent de dégradation des denrées périssables et une menace potentielle pour la sécurité alimentaire.

D'autre part, *P. aeruginosa* est également redouté pour sa multirésistance aux antibiotiques. Cette résistance repose sur plusieurs mécanismes moléculaires complexes : production de β -lactamases, modifications enzymatiques des aminosides, réduction de l'expression des porines, mutations des topoisomérases, et surexpression des pompes d'efflux. L'ensemble de ces stratégies confère à *P. aeruginosa* une résistance intrinsèque élevée et une capacité remarquable à acquérir de nouveaux gènes de résistance via transfert horizontal (plasmides, intégrons), rendant les infections particulièrement difficiles à traiter et favorisant l'émergence de souches multirésistantes (Bonomo et Szabo, 2006). Ceci constitue aujourd'hui l'un des défis majeurs en santé publique à l'échelle mondiale.

L'utilisation abusive et souvent non contrôlée d'antibiotiques en élevage constitue un facteur aggravant majeur. L'administration systématique de céphalosporines, fluoroquinolones et colistine en prophylaxie ou comme promoteurs de croissance exerce une pression de

sélection intense, favorisant l'émergence de souches MDR dans la flore intestinale des animaux d'élevage (Mouiche *et al.*, 2019 ; Uddin *et al.*, 2021). Ces bactéries résistantes contaminent ensuite les viandes lors de l'abattage et de la transformation, créant un réservoir alimentaire critique. Le danger sanitaire réside notamment dans le transfert de gènes de résistance vers d'autres bactéries pathogènes du microbiote intestinal humain via la conjugaison bactérienne (Stellato *et al.*, 2016).

Cette situation soulève des préoccupations majeures quant à la présence de souches multirésistantes dans la chaîne alimentaire. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce mémoire qui vise à étudier la présence et la résistance aux antibiotiques de souches de *P. aeruginosa* dans les produits carnés. La démarche s'articule en trois chapitres complémentaires :

- Le premier chapitre est consacré à une revue générale sur *Pseudomonas aeruginosa*.
- Le deuxième chapitre traite de manière approfondie de la résistance aux antibiotiques.
- Enfin, le troisième chapitre est dédié à l'étude pratique menée au laboratoire universitaire, portant sur l'isolement, l'identification et l'évaluation de la résistance aux antibiotiques de souches de *P. aeruginosa* isolées à partir de produits carnés dans la région de Mila.

Le mémoire se conclut par une synthèse des résultats et une réflexion sur les perspectives futures.

CHAPITRE 1:
GÉNÉRALITÉS SUR *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA

1. Historique

En 1882, le pharmacien français Carle Gessard, sur les recommandations de Louis Pasteur, isola pour la première fois un micro-organisme responsable de la coloration bleu-vert observée sur les pansements médicaux souillés (Diggle et Whiteley, 2020). Il identifia ainsi *Pseudomonas aeruginosa*, initialement appelée Bacille pyocyanique, en raison du pigment qu'elle produit. Cette bactérie sera plus tard reconnue comme un agent fréquent de sur infection des plaies, notamment chez les soldats blessés durant la Première Guerre mondiale (Chaker, 2012).

2. Habitat

Pseudomonas aeruginosa est un microorganisme largement répandu dans la nature, où il colonise divers habitats tels que le sol, l'eau (douce et marine), les plantes, les animaux et l'homme (Ryan et Ray, 2004). Il est également fréquemment retrouvé dans les environnements riches en matière organique comme les eaux usées, ainsi que dans les milieux hospitaliers, où il peut devenir un agent pathogène opportuniste. Grâce à sa capacité à synthétiser l'arginine, *P. aeruginosa* peut se développer en conditions anaérobies, bien qu'il soit naturellement aérobic strict, ce qui lui confère une grande adaptabilité (Costerton et Anwar, 1994 et Lederberg, 2000).

Cette faculté d'adaptation lui permet d'être l'un des microorganismes les plus omniprésents. Dans l'industrie alimentaire, et en particulier dans le secteur des produits carnés, sa présence est souvent utilisée comme indicateur de détérioration, en raison de ses activités protéolytiques, lipolytiques et lécithinases marquées (Burt, 2004 ; Raji, 2006).

3. Classification

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, qui regroupe des bactéries à Gram négatif généralement dotées d'une ciliature polaire, bien que certaines souches puissent exceptionnellement être immobiles. Ce sont des bactéries strictement aérobies, possédant un métabolisme exclusivement respiratoire, et capables de fermenter le glucose.

La classification taxonomique de *P. aeruginosa* est présentée dans le tableau 01 ci-dessous (Bourahla et Haddache, 2015).

Tableau 1 : Taxonomie de *P. aeruginosa* (Mderreg, 2015)

Règne	Bacteria
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>aeruginosa</i>

4. Bactériologie de *Pseudomonas aeruginosa*

4.1. Caractères morphologiques

Pseudomonas aeruginosa est un bacille fin de forme allongée, mesurant entre 1 et 5 µm de long et 0,5 à 1 µm de large (Chaker, 2012). Il s'agit d'une bactérie à Gram négatif appartenant au groupe des bacilles non fermentatifs (BGNNF). Elle peut être entourée d'une pseudo-capsule muqueuse, appelée slime, qui joue un rôle important dans la protection de la bactérie et dans sa pathogénicité, notamment au sein des biofilms.

Cette espèce se caractérise par une forte mobilité assurée par un flagelle polaire (Figure1), généralement monotriche (Solbi, 2013).



Figure 1 : Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* (Mandal, 2019)

4.2. Caractères cultureux

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie non fermentaire, strictement aérobie et peu exigeante sur le plan nutritionnel. Elle peut se développer dans une large gamme de températures, généralement entre 30 °C et plus de 40 °C (LaBauve and Wargo, 2012). Sa croissance est rapide : en 24 heures, elle forme des colonies bien visibles sur des milieux de culture courants comme la gélose Trypticase Soja, ainsi que sur des milieux sélectifs tels que les géloses au cétrimide, utilisés pour favoriser son isolement.

Les colonies de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique rappelant celle du seringia (ou jasmin des poètes), en raison de la production d'ortho-aminoacétophénone (D'Argenio *et al.*, 2002 ; Hansen *et al.*, 2012). Plusieurs types de colonies peuvent être observés, simultanément ou séparément :

- **Colonies de type "Large"** : de grande taille, isolées, avec un centre bombé et des bords irréguliers. Elles présentent fréquemment un phénomène d'autolyse, donnant un aspect métallique et irisé, dû à l'activité protéolytique intense de la bactérie.
- **Colonies de type "S" (Small)** : plus petites, à surface mate, légèrement bombées, avec un contour régulier et circulaire. Elles sont typiquement observées en début de culture.
- **Colonies de type "M" (Muqueuses)** : opaques, visqueuses à coulantes, souvent associées à des infections chroniques comme celles des voies respiratoires ou urinaires. Ces formes produisent de l'acide alginique, un polysaccharide extracellulaire distinct du « slime » (Solbi, 2013).

4.3. Caractères biochimiques

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie strictement aérobie, caractérisée par un métabolisme oxydatif des sucres, notamment observable sur le milieu MEVAG. Elle utilise principalement l'oxygène comme accepteur final d'électrons au cours de la respiration. Toutefois, en l'absence de sources carbonées fermentescibles, elle est capable de recourir aux nitrates comme accepteur d'électrons, grâce à l'enzyme nitrate réductase.

Cette espèce présente une capacité remarquable à dégrader des composés organiques complexes, tels que les protéines, l'amidon ou encore la cellulose. Elle est catalase positive et oxydase positive, des tests biochimiques qui contribuent à son identification en laboratoire.

P. aeruginosa se distingue également par une grande versatilité nutritionnelle, lui permettant d'utiliser une large gamme de sources de carbone, incluant des sucres simples ou complexes, des alcools, ainsi que des acides aminés (Vasil, 1986 ; Benabid, 2009 ; Clave, 2011).

Sur le plan pigmentaire, elle produit deux types principaux de pigments, qui facilitent son identification :

- **La pyoverdine** : pigment fluorescent jaune-vert, hydrosoluble mais insoluble dans le chloroforme.
- **La pyocyanine** : pigment bleu-vert non fluorescent, soluble à la fois dans l'eau et dans le chloroforme. Ce dernier appartient à la famille des phénazines et constitue un marqueur spécifique de *P. aeruginosa*, étant propre à cette espèce (Denis *et al.*, 2011).

4.4. Caractères génomiques

Le génome de la souche de référence de *Pseudomonas aeruginosa* a été entièrement séquencé en 2000 (Stover *et al.*, 2000). Il s'agit du plus grand génome bactérien connu à ce jour, avec environ 6,3 millions de paires de bases. Ce génome présente une richesse exceptionnelle en gènes régulateurs, impliqués dans divers processus biologiques tels que le métabolisme, le transport, l'efflux de composés organiques, ainsi que dans plusieurs systèmes de sécrétion et de mobilité.

Cette complexité génomique confère à *P. aeruginosa* une remarquable capacité d'adaptation à une grande variété d'environnements, ainsi qu'une aptitude à infecter de nombreux types d'hôtes. Elle est également à l'origine de sa résistance intrinsèque à de nombreuses classes d'antibiotiques. Par ailleurs, le génome de cette bactérie est caractérisé

par une teneur élevée en bases guanine et cytosine, ce qui reflète sa stabilité génétique et son potentiel évolutif (Stover *et al.*, 2000).

4.5. Caractères antigéniques

Pseudomonas aeruginosa exprime plusieurs types d'antigènes, qui jouent un rôle essentiel dans sa reconnaissance par le système immunitaire ainsi que dans sa pathogénicité. Parmi les principaux antigènes exprimés, on distingue :

- **L'antigène O** également appelé antigène somatique, utilisé pour la classification en 20 sérotypes distincts.
- **L'antigène H** ou antigène flagellaire, est associé à la structure protéique externe des flagelles. Il est particulièrement variable, puisqu'on dénombre au moins 55 antigènes différents, ce qui reflète une grande diversité antigénique.
- **D'autres antigènes** contribuent également à la réponse immunitaire, tels que les pili, les porines, ainsi que l'exotoxine A, tous reconnus pour leur caractère antigénique (Bourahla, Haddache, 2015)

5. Pouvoir pathogène

Bien que largement étudié en milieu hospitalier, *Pseudomonas aeruginosa* demeure relativement peu reconnu en tant qu'agent pathogène dans le domaine de la sécurité alimentaire. Pourtant, sa grande polyvalence métabolique, sa capacité à se reproduire rapidement, son aptitude à s'adapter à divers environnements, ainsi que sa faculté à se développer à basse température, en font un micro-organisme ubiquitaire. Ces caractéristiques contribuent à sa persistance dans les chaînes alimentaires et à son implication croissante comme agent responsable d'infections d'origine alimentaire (Gao *et al.*, 2023).

6. Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa possède une grande capacité d'adaptation aux environnements hostiles, notamment ceux rencontrés chez l'hôte, en produisant divers facteurs de virulence (Figure 2) qui favorisent l'infection et la progression de la maladie (Vidaillac *et al.*, 2021)

1. **Lipopolysaccharide (LPS)** : Ce composant majeur de la membrane externe joue un rôle essentiel dans la protection bactérienne, l'attachement aux cellules hôtes, et l'induction de réponses inflammatoires par le biais du lipide A, responsable de l'endotoxicité (Park *et al.*, 2022). Le LPS est également impliqué dans la formation de biofilms et peut contribuer à la tolérance aux antibiotiques (Chambers *et al.*, 2017).

2. **Protéines membranaires externes (OMP)** : Ces protéines participent à l'acquisition de nutriments, à l'adhésion aux surfaces, et à la résistance aux antimicrobiens (Sabnis *et al.*, 2021).
3. **Structures d'adhésion** : Les flagelles, les pili et d'autres adhésines facilitent l'adhésion aux cellules hôtes et la formation de biofilms, renforçant ainsi la résistance aux traitements (Ozer *et al.*, 2021).
4. **Systèmes de sécrétion** : *P. aeruginosa* utilise six types de systèmes de sécrétion pour interagir avec l'hôte. Parmi eux :
 - Le **T3SS** (système de sécrétion de type III), qui injecte des toxines directement dans les cellules hôtes.
 - Le **T4SS** (lié aux pili), et le **T6SS** (associé aux flagelles), tous deux impliqués dans la colonisation, la mobilité (nage, essaimage) et la signalisation cellulaire.
5. **Exopolysaccharides** : Des molécules comme l'alginate, le Psl et le Pel favorisent la formation et la stabilité des biofilms, tout en réduisant la clairance bactérienne par le système immunitaire (Ozer *et al.*, 2021).

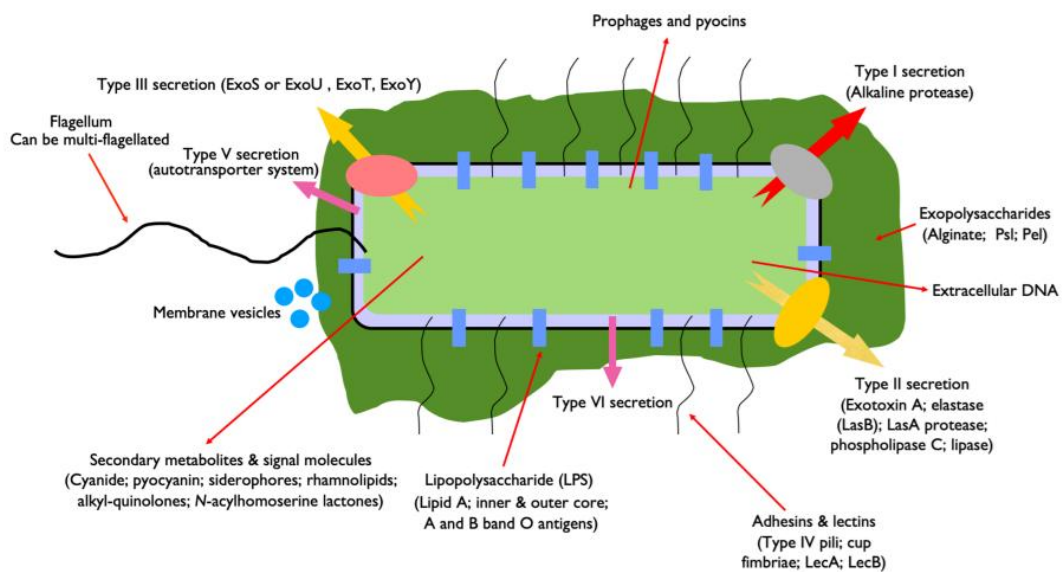


Figure 2 : Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* (Diggle et Whiteley, 2020).

7. *Pseudomonas aeruginosa* est un formateur de biofilm typique

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie typiquement associée à la formation de biofilms et constitue un modèle paradigmatique pour leur étude. Il a été estimé que 65 à 80 % des infections nosocomiales sont liées à la présence de biofilms. Ces structures sont

constituées principalement de substances polymériques extracellulaires (EPS) produites par les bactéries, formant une matrice qui entoure les cellules et les protège des pressions environnementales (Ma *et al.*, 2022).

La formation du biofilm suit une séquence bien définie : d'abord, l'adhésion à des surfaces propices comme les instruments médicaux ou les aliments, suivie de la formation de microcolonies, puis de la maturation du biofilm par l'expression des composants matriciels (Sauer *et al.*, 2002).

8. Disponibilité de *Pseudomonas aeruginosa* dans les aliments

Pseudomonas aeruginosa soulève d'importantes préoccupations en matière de sécurité alimentaire en raison de sa capacité à contaminer les aliments au cours du processus de production. Cette bactérie est impliquée dans des cas d'intoxications alimentaires, elle est également associée à une résistance aux antimicrobiens chez les animaux, et forme des biofilms qui compliquent considérablement les mesures de prévention (Xu *et al.*, 2019).

En raison de son caractère adhésif, *P. aeruginosa* peut facilement coloniser les surfaces de transformation et persister dans l'environnement de production alimentaire. Sa présence altère non seulement la qualité des produits transformés, mais représente aussi un risque potentiel pour la santé des consommateurs (Xu *et al.*, 2019).

Le poulet occupe une place essentielle dans l'alimentation humaine en raison de sa richesse en nutriments. Cependant, *Pseudomonas aeruginosa* est reconnu comme l'un des principaux micro-organismes responsables de problèmes dans l'industrie avicole. Cette bactérie compromet la qualité de la viande de poulet conservée au froid, en provoquant une texture glissante et l'émission d'odeurs désagréables, ce qui réduit significativement sa durée de conservation (Arnaut-Rollier *et al.*, 1999).

Au-delà de l'altération des denrées alimentaires, *P. aeruginosa* constitue également un risque notable pour la santé humaine et animale. Elle est fréquemment associée à des infections opportunistes et secondaires (Kumari *et al.*, 2009 ; Høibye *et al.*, 2010 ; Lopez *et al.*, 2015).

Dans les produits carnés, cette bactérie a été couramment isolée à partir de diverses sources, notamment la volaille, le bœuf et le poisson.

CHAPITRE 2:
LA RÉSISTANCE AUX
ANTIBIOTIQUES

1. Historique

Les antibiotiques sont la classe de médicaments la plus importante et l'une des inventions médicales les plus influentes du XXe siècle. Leur découverte a marqué une avancée majeure en médecine, réduisant considérablement la morbidité et la mortalité liées aux infections bactériennes (Uddinet *al.*, 2021). Les premières découvertes marquantes dans le domaine des antibiotiques remontent au début du XXe siècle (Figure 3), avec les travaux de Paul Ehrlich sur le Salvarsan utilisé contre la syphilis (Ehrlich et Hata, 1910).

La découverte de la pénicilline par Fleming en 1928 (Fleming, 1929), et sa purification en 1940 par Abraham, Florey et Chain (Abraham, 1941) a révolutionné la lutte contre les infections bactériennes. Fleming fut également l'un des premiers à alerter sur le risque de résistance en cas d'utilisation inappropriée (Aminov, 2010). Parallèlement, le Prontosil, développé par Klarer Mietzsch et testé par Domagk (1935), marque l'arrivée des sulfamides, bien que leur usage ait rapidement conduit à l'apparition de résistances (Aminov, 2010).

Ces avancées ont fondé l'« âge d'or des antibiotiques » (1940–1970), période à laquelle de nombreuses classes ont été découvertes (Uddin *et al.*, 2021). Cependant, cette période a également vu émerger des souches bactériennes résistantes (Figure 3), un phénomène qui a progressivement compromis l'efficacité de ces molécules (Hutchings *et al.*, 2019). Depuis lors, face à l'augmentation des résistances, la recherche s'est principalement orientée vers la modification des antibiotiques existants plutôt que vers l'innovation de nouvelles classes (Aslam *et al.*, 2018).

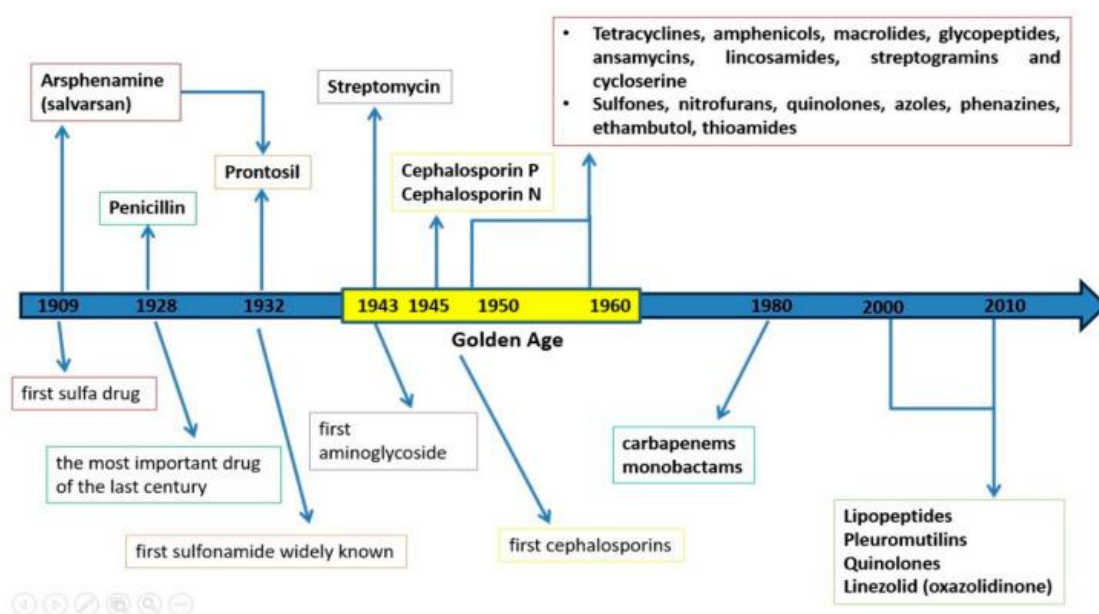


Figure 3 : Chronologie des découvertes d'antibiotiques (Pancu *et al.*, 2021)

2. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques (du grec *anti*, signifiant « contre », et *bios*, « la vie ») sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques. Ils peuvent être produits par des micro-organismes tels que certaines bactéries ou champignons, ou bien être obtenus par synthèse, en imitant la structure des antibiotiques naturels. Leur action consiste soit à inhiber la croissance des bactéries (on parle alors d'un effet bactériostatique), soit à les détruire directement (effet bactéricide), de manière ciblée (Sadikalay, 2018).

3. Caractéristiques des antibiotiques

Les antibiotiques présentent plusieurs caractéristiques fondamentales qui expliquent leur efficacité thérapeutique. Ils exercent une activité antibactérienne spécifique, permettant de traiter les infections causées par des bactéries. Leur toxicité sélective constitue un avantage majeur, puisqu'ils ciblent préférentiellement les bactéries pathogènes sans altérer de manière significative les cellules humaines. De plus, leur efficacité persiste en milieu organique, une propriété indispensable pour assurer leur action dans les divers compartiments de l'organisme. Enfin, les antibiotiques sont généralement bien absorbés et présentent une bonne diffusion tissulaire, garantissant ainsi une concentration suffisante au site de l'infection pour une prise en charge optimale (Meskine et Benabdelkader, 2016).

4. Origine des antibiotiques

Jusqu'à la fin du XXe siècle, les antibiotiques étaient majoritairement issus de sources naturelles. Les traitements médicamenteux destinés à lutter contre les infections reposaient sur l'exploitation de micro-organismes (Figure 4) capables de produire des substances antimicrobiennes. Toutefois, ces antibiotiques d'origine naturelle présentaient des limitations notables, notamment une toxicité importante et une variabilité dans leur production. Ces contraintes ont motivé le développement d'antibiotiques semi-synthétiques, obtenus par modification chimique de molécules naturelles, puis d'antibiotiques entièrement synthétiques. Cette évolution technologique a permis de concevoir des molécules plus stables, efficaces et adaptées aux besoins thérapeutiques modernes (Oloke, 2000).

Ainsi, en fonction de la nature de la source, les antibiotiques peuvent être regroupés en trois catégories (Pancu *et al.*, 2021):

- Composés naturels : obtenus à partir de micro-organismes tels que les bactéries ou les champignons.

- Produits semi-synthétiques : produits naturels chimiquement modifiés pour améliorer leur efficacité ou leur stabilité.
- Produits synthétiques : entièrement conçus par synthèse chimique en laboratoire.

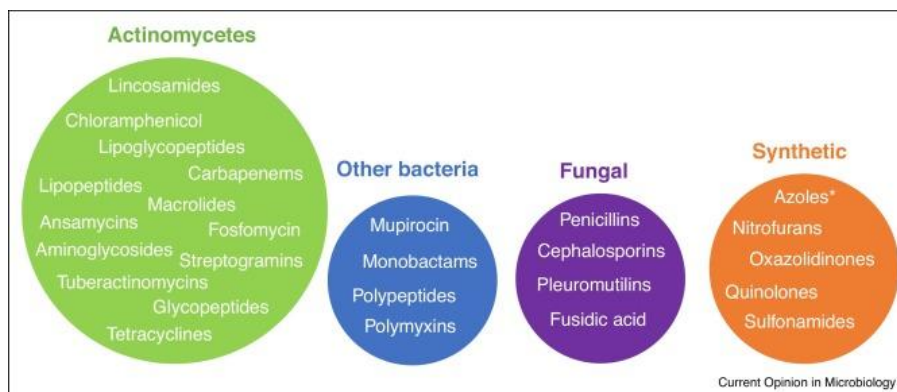


Figure 4 : Origines et diversité des antibiotiques : des sources naturelles aux dérivés synthétiques (Hutchings *et al.*, 2019).

5. Les principales classes d'antibiotiques

Les antibiotiques constituent un ensemble de molécules aux structures chimiques variées et aux propriétés thérapeutiques spécifiques, directement liées à leur structure. Par conséquent, la structure chimique est considérée comme un critère fiable pour la classification des antibiotiques. Sur cette base, les antibiotiques sont classés dans les catégories suivantes (Figure 5): les β -lactamines, les macrolides, les tétracyclines, les aminosides, les sulfamides et les quinolones (Etebu et Arikekpar, 2016; Pancu *et al.*, 2021).

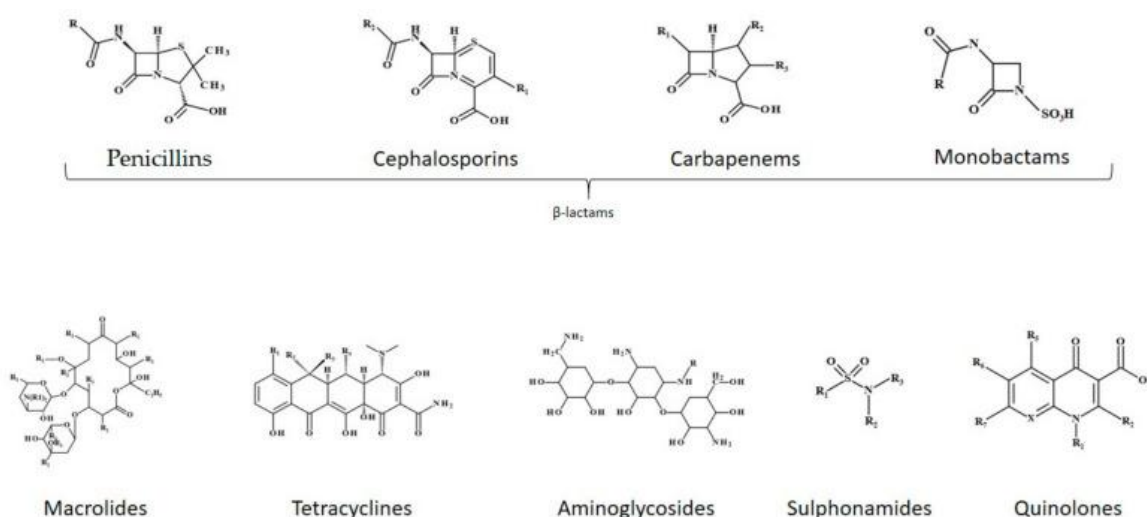


Figure 5: Classes principales d'antibiotiques et leurs structures chimiques générales (Pancu *et al.*, 2021)

5.1. Les bêtalactamines

Les bêta-lactamines constituent l'une des classes les plus répandues d'antibiotiques. Ils regroupent quatre familles principales d'antibiotiques : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames (Pancu *et al.*, 2021). Leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition des protéines de liaison aux pénicillines (PLP), notamment les transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (Etebu et Arikekpar, 2016). En mimant structuralement le D-alanyl-D-alanine, substrat naturel des PLP, elles bloquent la formation des liaisons croisées du peptidoglycane, entraînant une action bactéricide temps-dépendante (Sadikalay, 2018). Leur spectre d'activité varie selon les familles, allant des pénicillines à spectre étroit aux carbapénèmes à large spectre. Les principaux mécanismes de résistance incluent la production de bêta-lactamases et la modification des PLP (Singleton, 2005).

5.2. Les aminosides (ou aminoglycosides)

Ce sont des hétérosides naturels ou hémi-synthétiques à effet bactéricide réservés à des infections généralement sévères (Buxeraud et Faure, 2016). Ils se lient de manière irréversible à la sous-unité 30S du ribosome, inhibant ainsi le processus de traduction (Hutchings *et al.*, 2019 ; Pancu *et al.*, 2021). Cette fixation entraîne des erreurs dans la lecture de l'information génétique portée par l'ARN messager (Figarella *et al.*, 2007).

5.3. Les quinolones

Les quinolones sont de puissants agents antibactériens synthétiques, dont les molécules sont dérivées structurellement du composé aromatique hétéro-bicyclique appelé quinoléine (Pancu *et al.*, 2021). Ils se divisent en deux catégories : les quinolones classiques et les fluoroquinolones à large spectre, ciblant certaines espèces spécifiques (Figarella *et al.*, 2007). Leur action repose sur l'inhibition des enzymes impliquées dans la régulation de la structure de l'ADN, principalement les topo-isomérases de type II, également appelées ADN gyrases (Hutchings *et al.*, 2019). Elles possèdent une activité bactéricide et pénètrent efficacement à l'intérieur des cellules eucaryotes, atteignant ainsi de bonnes concentrations intracellulaires (Figarella *et al.*, 2007).

5.4. Les sulfamides et le triméthoprim

Les sulfamides sont un groupe de composés synthétiques d'une grande importance médicale, contenant dans leur structure le groupe chimique sulfonamide ($R-SO_2-NR_2$) (Pancu *et al.*, 2021). Ces agents antimicrobiens ciblent des enzymes clés intervenant dans la biosynthèse de l'acide folique et des folates, indispensables à la production des acides

nucléiques (Hutchings *et al.*, 2019). Les sulfamides inhibent la dihydroptéroate-synthétase, tandis que le triméthoprim agit spécifiquement sur la dihydrofolate-réductase. Ensemble, ces inhibitions perturbent la synthèse de l'ADN, conférant à ces composés une activité bactéricide (Figarella *et al.*, 2007).

5.5. Les macrolides, lincosamides et synergistines

Les macrolides sont des antibiotiques constitués d'un noyau lactone macrocyclique, généralement composé de 14, 15 ou 16 atomes, auquel sont attachés divers sucres aminés (Pancu *et al.*, 2021). Ces molécules ciblent la sous-unité 50S du ribosome bactérien. Les macrolides et les lincosamides exercent une action bactériostatique, tandis que les synergistines sont bactéricides (Hutchings *et al.*, 2019). Elles présentent également une bonne capacité de pénétration intracellulaire, atteignant des concentrations élevées dans les cellules eucaryotes (Figarella *et al.*, 2007).

5.6. Les tétracyclines

Ce sont des composés possédant un noyau tétracyclique linéairement fusionné, auquel sont attachés divers groupes chimiques (Pancu *et al.*, 2021). Les premières molécules de cette classe ont été obtenues respectivement à partir de *Streptomyces aureofaciens* et *Streptomyces rimosus*, mais les molécules découvertes plus récemment sont semi-synthétiques (Chopra *et al.*, 2001). Leur cible d'activité antimicrobienne chez les bactéries est le ribosome (Hutchings *et al.*, 2019). Les tétracyclines perturbent l'ajout d'acides aminés aux chaînes polypeptidiques lors de la synthèse des protéines dans cet organite bactérien (Etebu et Arikekpar, 2016).

6. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques se distinguent des antiseptiques par la spécificité de leur mécanisme d'action. En effet, ils agissent sur des structures bactériennes précises appelées sites d'action (McDonnell et Russell, 1999). L'efficacité d'un antibiotique résulte d'interactions complexes entre l'organisme hôte, l'antibiotique lui-même, et les bactéries ciblées (Uddinet *et al.*, 2021). Pour exercer son effet, un antibiotique doit remplir plusieurs conditions essentielles (Gaudy et Buxeraud, 2005), il doit atteindre sa cible bactérienne en traversant les barrières physiologiques, résister aux mécanismes d'inactivation enzymatique ou chimique, et se lier efficacement à son site d'action.

Les antibiotiques, n'ayant pas le même mécanisme d'action, sont classés par les scientifiques en fonction de leur modes d'action, et de leur structure chimique (Kaur Sodhi *et*

al., 2023). Quatre grandes cibles bactériennes ont ainsi été exploitées dans le développement des médicaments antimicrobiens (Figure 6).

6.1. Inhibition de la réplication de l'ADN

Les fluoroquinolones (ex. ciprofloxacine) bloquent les enzymes ADN gyrase (topoisomérase II) et topoisomérase IV, essentielles pour la réplication et la séparation de l'ADN. L'ADN gyrase est la cible principale chez les bactéries Gram-, tandis que la topoisomérase IV est prioritaire chez les Gram+. Cela provoque des cassures de l'ADN et la mort cellulaire (Shree *et al.*, 2023).

6.2. Inhibition de la biosynthèse des protéines

Certains antibiotiques inhibent la biosynthèse des protéines bactériennes en ciblant le ribosome, essentiel à la traduction de l'information génétique en protéines (Halawa *et al.*, 2024). Ces antibiotiques agissent spécifiquement sur les sous-unités 30S et 50S : les aminosides et les tétracyclines ciblent la sous-unité 30S en interférant avec l'ARNr 16S ou la liaison de l'ARNt, tandis que les macrolides, le chloramphénicol et les oxazolidinones agissent sur la sous-unité 50S, bloquant la formation des liaisons peptidiques ou du complexe d'initiation (Sadikalay, 2018 ; Uddin *et al.*, 2021). Ces mécanismes empêchent la synthèse des protéines et freinent ainsi la croissance bactérienne (Halawa *et al.*, 2024).

6.3. Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

La paroi bactérienne, composée de peptidoglycane (NAG-NAM liés par des chaînes d'acides aminés), est ciblée via les enzymes transpeptidase et carboxypeptidase responsables de la réticulation (Halawa *et al.*, 2024). Les antibiotiques (ex. bêta-lactamines) perturbent ces étapes, affaiblissant la paroi et entraînant la lyse cellulaire (Pancu *et al.*, 2021 ; Belay *et al.*, 2024).

6.4. Inhibition du métabolisme de l'acide folique

Les sulfamides inhibent la dihydroptéroate synthase, tandis que le triméthoprim bloque la dihydrofolate réductase. Ces deux enzymes sont cruciales pour la synthèse des folates, nécessaires à la production d'ADN et de protéines (Sadikalay, 2018 ; Hutchings *et al.*, 2019 ; Pancu *et al.*, 2021 ; Halawa *et al.*, 2024).

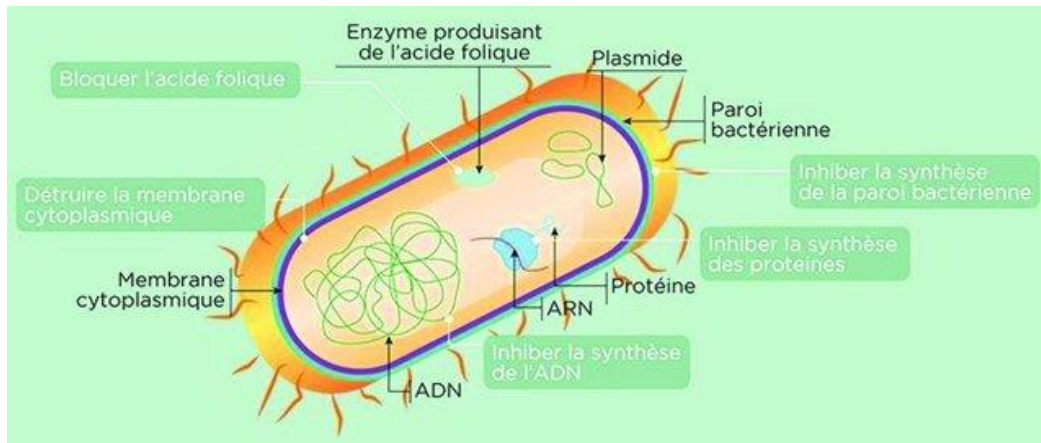


Figure 6 : Principaux sites d'action des antibiotiques (Martak, 2021).

7. La résistance aux antibiotiques

7.1. Définition

La résistance aux antimicrobiens désigne l'incapacité des micro-organismes à répondre aux médicaments antimicrobiens tels que les antibiotiques (OMS, 2024).

7.2. Les types de résistance

On distingue principalement deux formes de résistance bactérienne aux antibiotiques :

7.2.1. La résistance naturelle (ou intrinsèque)

La résistance naturelle est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, affectant l'ensemble de ses souches appartenant à la même espèce. Elle est permanente et d'origine chromosomique, stable et transmise à la descendance (transmission verticale), et, généralement, non transférable d'une bactérie à l'autre (Sadikalay, 2018). La résistance naturelle détermine le spectre d'action naturel de l'antibiotique et peut également servir d'outil dans l'identification bactérienne (Mesaros *et al.*, 2007 ; Nyaledome, 2016).

7.2.2. La résistance acquise

La résistance est qualifiée d'acquise lorsqu'une ou plusieurs souches appartenant à une espèce bactérienne initialement sensible à un antibiotique développent une capacité de résistance (Elmeskini, 2011 ; Veyssiere, 2019). Elle se manifeste par l'émergence d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez des bactéries auparavant sensibles (OMS, 2024). Cette résistance peut avoir une origine chromosomique, liée à une mutation génétique, ou extra-chromosomique via le transfert des plasmides (Sadikalay, 2018).

7.2.3. La multi-résistance

La multi-résistance est généralement définie comme une résistance, ou une sensibilité réduite, à au moins deux ou trois classes d'antibiotiques habituellement efficaces sur les souches sauvages, notamment les bêta-lactamines, les fluoroquinolones et les aminosides (Obritsch *et al.*, 2004 ; Shorr, 2009).

8. Les mécanismes de résistance microbienne aux antibiotiques

Les microorganismes ont développé divers mécanismes pour se protéger de l'action des antibiotiques. Parmi les plus couramment observés figurent la diminution de la perméabilité à l'entrée des antibiotiques, expulsion par les pompes à efflux, la production d'enzymes inactivatrices, ainsi que la modification de la structure de la cible. D'autres mécanismes existent également, mais ils sont plus rares et spécifiques à certaines classes d'agents antimicrobiens (Zhou *et al.*, 2015 ; Sadikalay, 2018).

8.1. Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques

C'est l'un des mécanismes de résistance le plus répandu, il concerne presque toutes les familles des antibiotiques (Sadikalay, 2018). Les bactéries développent des mécanismes enzymatiques pour inactiver les antibiotiques, en modifiant leur structure ou en les détruisant. Certaines enzymes bactériennes ajoutent des groupes chimiques tels que phosphoryl, acétyl ou adényl aux antibiotiques, empêchant leur fixation sur la cible. Ce mécanisme est fréquent contre des classes comme les aminosides, les fluoroquinolones, le chloramphénicol et les streptogramines. En particulier, les enzymes modifiant les aminosides (AMEs) inactivent ces molécules par acétylation, adénylation ou phosphorylation. D'autres enzymes, comme les β -lactamases (Figure 7), hydrolysent le cycle β -lactame des β -lactamines, les empêchant de se lier aux protéines de liaison à la pénicilline (PBP), un mécanisme majeur de résistance à cette classe (Zhou *et al.*, 2015 ; Uddin *et al.*, 2021 ; Halawa *et al.*, 2024).

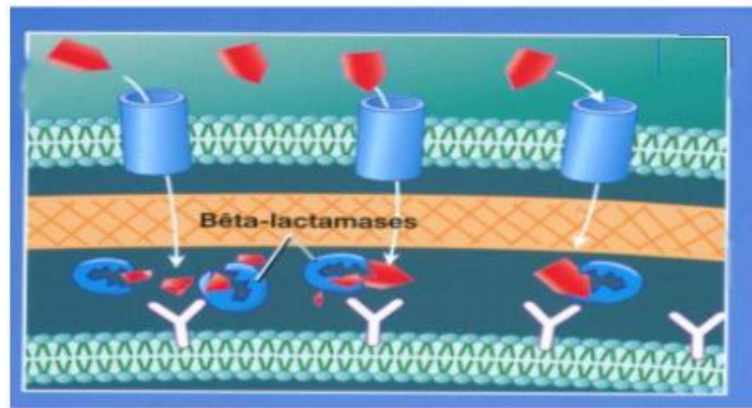


Figure 7 : Résistance par production d'enzymes (Archambaud, 2009).

Les antibiotiques bêta-lactamines (en rouge) sont inactivés par les bêta-lactamases bactériennes avant d'atteindre leur cible (protéines liant la pénicilline, en blanc en forme de "Y").

8.2. Résistance par modification de la cible

Pour qu'un antibiotique agisse, il doit se lier à une cible spécifique dans la bactérie. Si cette cible est altérée (par mutation ou substitution) de sorte que l'antibiotique ne peut plus s'y fixer, la bactérie devient résistante. Ce mécanisme confère souvent une résistance à toute une classe d'antibiotiques partageant la même cible (Zhou *et al.*, 2015 ; Halawa *et al.*, 2024).

8.2.1. Modification des PLP

Les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) sont cruciales pour la synthèse de la paroi bactérienne. Les antibiotiques β -lactamines les inhibent normalement, provoquant la lyse cellulaire. La résistance apparaît lorsque les PLP sont modifiées, soit par mutations réduisant leur affinité pour l'antibiotique (ex. : PBP2a chez *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), soit par surexpression d'isoformes naturellement moins sensibles (comme chez *Streptococcus pneumoniae*). Cela empêche l'antibiotique de bloquer la synthèse de la paroi (Sadikalay, 2018 ; Uddin *et al.*, 2021).

8.2.2. Modification de la cible ribosomale

Les ribosomes, complexes ribonucléoprotéiques responsables de la synthèse protéique bactérienne, sont la cible de nombreux antibiotiques tels que les tétracyclines, les macrolides, les aminosides, le chloramphénicol, les lincosamides et les streptogramines. La résistance peut apparaître par des modifications des sous-unités ribosomiques 30S ou 50S, résultant de mutations affectant les gènes codant les ARN ribosomaux (ARNr 16S ou 23S) ou certaines

protéines ribosomales (Kaur Sodhi et Singh, 2022; Belay *et al.*, 2024 ; Halawa *et al.*, 2024). Ces altérations entraînent une modification conformationnelle du site de liaison de l'antibiotique, réduisant fortement son affinité tout en préservant la fonction traductionnelle du ribosome (Zhou *et al.*, 2015). Ce mécanisme est principalement impliqué dans les résistances aux tétracyclines, macrolides-lincosamides, phénicolés, acide fusidique, et dans certains cas aux aminosides (Wilson, 2014).

8.2.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques

La gyrase de l'ADN est indispensable à la réplication de l'ADN. En inhibant son activité, les antibiotiques appartenant à la classe des quinolones possèdent une action bactéricide. Des modifications peuvent aboutir à la production d'enzymes altérées qui ne sont pas affectées par ces antibiotiques (Uddin *et al.*, 2021 ; Belay *et al.*, 2024).

L'ARN polymérase ADN-dépendante (transcriptase) est indispensable pour la production des ARN messagers. Les rifamycines inhibent l'activité de cette enzyme. Les résistances obtenues par mutation sont attribuées à la création de transcriptase altérée (Françoise, 2008).

8.3. Efflux actif

L'efflux actif est un mécanisme utilisé par les bactéries et certaines cellules eucaryotes pour expulser des substances toxiques, comme les antibiotiques, grâce à des protéines transmembranaires appelées pompes à efflux. Ce processus consomme de l'énergie. Ces pompes, à large spécificité de substrats, diminuent la concentration intracellulaire d'agents antimicrobiens, réduisant ainsi leur efficacité (Figure 8). Elles sont classées selon leur substrat et la source d'énergie utilisée (Belay *et al.*, 2024 ; Halawa *et al.*, 2024). On distingue :

- Les pompes SDR (Specific Drug Resistance), souvent portées par des éléments génétiques mobiles, responsables d'une résistance élevée à des antibiotiques spécifiques (Françoise, 2008).
- Les pompes MDR (Multidrug Resistance), généralement chromosomiques, conférant une résistance plus faible à plusieurs substances (Zhou *et al.*, 2015 ; Belay *et al.*, 2024).

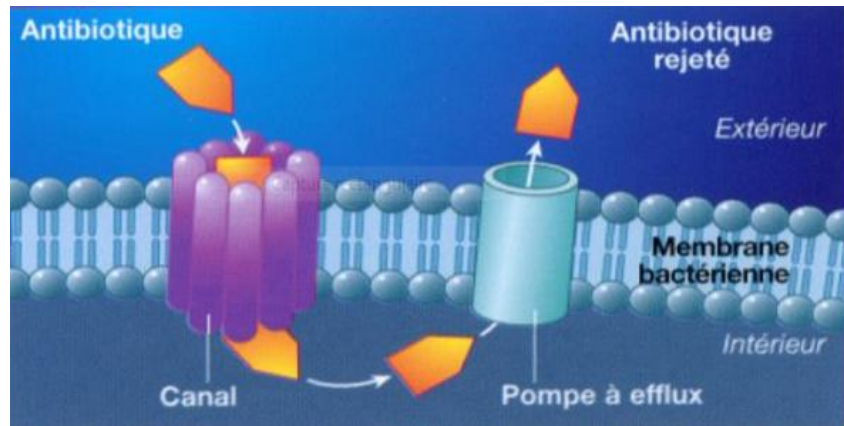


Figure 8 : Résistance par le biais d'un efflux actif du système (Archambaud, 2009)

9. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste particulièrement préoccupante en santé publique en raison de sa capacité à résister à un grand nombre d'antibiotiques, notamment les aminosides, quinolones et β -lactamines (Hancock & Speert, 2000). Cette résistance repose sur trois mécanismes principaux : intrinsèque, acquis et adaptatif, qui peuvent agir de façon complémentaire.

9.1. Résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque correspond à l'insensibilité naturelle d'une bactérie à certains antibiotiques, indépendamment de toute exposition préalable. Chez *P. aeruginosa*, elle s'explique notamment, (Figure 9), par la faible perméabilité de la membrane externe, qui limite l'entrée des antibiotiques ; l'activation de pompes d'efflux, capables d'expulser les molécules actives hors de la cellule, ainsi que la production d'enzymes inactivatrices, telles que les β -lactamases (Breidenstein *et al.*, 2011 ; Blair *et al.*, 2015 ; Pang *et al.*, 2019).

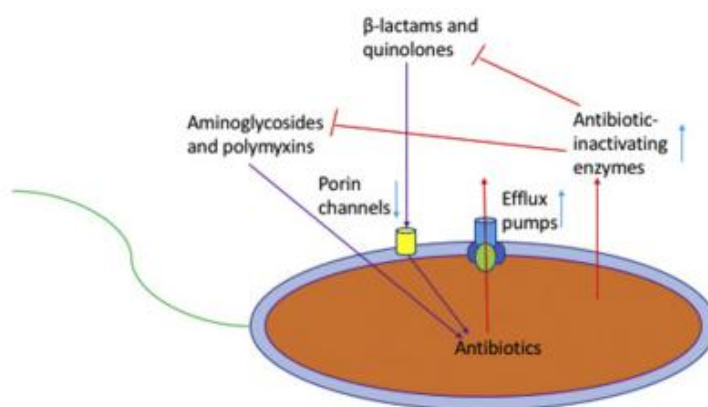


Figure 9: Représentation schématique des mécanismes de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* (Pang *et al.*, 2019)

9.2. Résistance acquise

La résistance naturelle de *P. aeruginosa* est aggravée par des résistances acquises, rendant son éradication difficile et causant des infections persistantes (Pang *et al.*, 2019).

a) Résistance par mutations

Pseudomonas aeruginosa peut développer une résistance aux antibiotiques à la suite de mutations génétiques. Ces mutations peuvent réduire la perméabilité de la membrane bactérienne en altérant l'expression de certaines porines, modifier les cibles des antibiotiques comme l'ADN gyrase ou la topoisomérase IV (Aldred *et al.*, 2014), entraîner la surexpression de pompes d'efflux qui expulsent les antibiotiques hors de la cellule, ou encore augmenter la production d'enzymes capables d'inactiver les antibiotiques, notamment les β -lactamases (Munita et Arias, 2016).

b) Acquisition de gènes de résistance

La résistance peut également résulter de l'acquisition de gènes spécifiques via le transfert horizontal entre bactéries, à l'aide de plasmides, transposons, prophages ou intégrons. Ces éléments génétiques mobiles facilitent la dissémination de gènes codant pour des enzymes comme les métallo- β -lactamases, qui dégradent un large éventail d'antibiotiques, en particulier les β -lactamines (Hong *et al.*, 2015 ; Khosravi *et al.*, 2017).

9.3. Résistance adaptative

P. aeruginosa peut développer, également, une résistance adaptative réversible en réponse à des stress environnementaux tel que les antibiotiques, le pH, les carences nutritives, etc (Motta *et al.*, 2015). Cette adaptation passe par des modulations transitoires de

l'expression génique, facilitant la survie dans des conditions hostiles (Breidenstein *et al.*, 2011).

La formation de biofilms et l'émergence de cellules dormantes dites "persistantes", capables de reprendre leur croissance après disparition de l'antibiotique, contribuent à l'établissement d'infections chroniques et récidivantes (Cohen *et al.*, 2013; Fisher *et al.*, 2017; Maurice *et al.*, 2018).

CHAPITRE 3:

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Objectifs

Notre étude, portant sur la recherche et la caractérisation phénotypique de *Pseudomonas aeruginosa* isolée de viandes de poulet et de viande rouge commercialisées dans la wilaya de Mila, a pour objectifs :

- ✓ D'estimer la charge microbienne en *Pseudomonas* spp dans chaque type de viande.
- ✓ D'identifier l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* parmi les souches isolées à l'aide de tests phénotypiques et biochimiques.
- ✓ D'évaluer les profils de sensibilité aux antibiotiques chez les souches de *P.aeruginosa*.

1. Matériels et Méthodes

1.1. Matériel

Le matériel de prélèvement, d'analyses microbiologiques et d'étude de la sensibilité aux antibiotiques est listé en Annexe n°01. La majorité des milieux de culture utilisés durant cette étude ont été préparés avant les analyses (Annexe n°02)

2. Méthode

2.1. Échantillonnage

Un total de 30 échantillons de viande, répartis équitablement entre 15 échantillons de viande de poulet et 15 de viande rouge, a été collecté en vue de l'isolement et de l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

L'échantillonnage a été réalisé durant les mois de mars et avril 2025, auprès de 15 boucheries situées dans la wilaya de Mila, réparties comme suit : 8 dans la commune de Mila, 5 à Grarem Gouga, et 2 à Sidi Merouane.

Les prélèvements ont été effectués de manière aseptique après l'achat, puis conditionnés dans des sacs de prélèvement stériles. Le transport des échantillons a été assuré dans une glacière afin de maintenir la chaîne du froid, et les analyses ont été réalisées le jour même de l'acquisition.

2.2. Analyses microbiologiques

Elles ont été réalisées au laboratoire pédagogique du Centre Universitaire de Mila selon les étapes suivantes :

2.2.1. Dénombrement du genre *Pseudomonas*

L'analyse a été réalisée conformément aux dispositions de l'Arrêté du 23 janvier 2019, publié au *Journal Officiel de la République Algérienne* n°38 du 12 juin 2019, lequel définit la méthode de dénombrement des *Pseudomonas spp.* présumés dans les viandes et produits carnés, y compris les volailles. Cette méthode constitue une adaptation de la norme ISO 13720:2010, mise en œuvre selon les étapes suivantes :

2.2.1.1. Prise d'essai, suspension mère

Pour chaque type de viande (poulet et viande rouge), 1 g a été pesé aseptiquement introduit stérilement dans un tube contenant 9 ml de diluant Tryptone- Sel- Eau (TSE).

L'homogénéisation du contenu a été effectuée à l'aide d'un vortex (Figure10).



Figure 10: Préparation de la solution mère

2.2.1.2. Préparation des dilutions

Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-5}) a été effectuée à partir de la solution mère. À l'aide d'une pipette graduée stérile, 1 ml de la solution mère a été transféré dans un premier tube contenant 9 ml de solution TSE (Figure 11). Chaque dilution a été homogénéisée par agitation, et une pipette stérile distincte a été utilisée pour chaque nouvelle dilution.

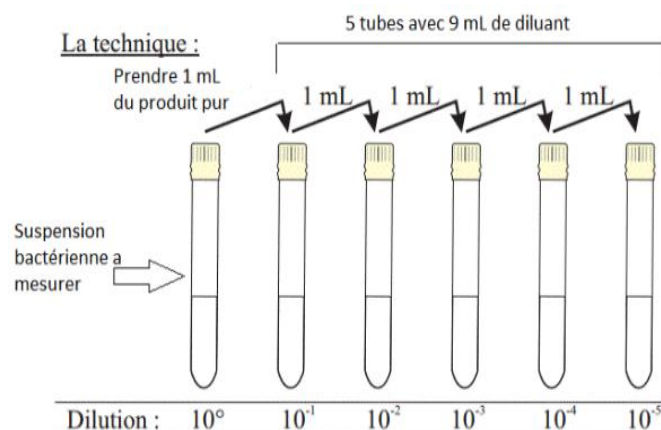


Figure 11 : Etapes de préparation des dilutions décimales.

2.2.1.3. Ensemencement et incubation

À l'aide d'une pipette stérile, 0,1 mL de chaque dilution a été transféré sur la surface d'une gélose sélective au cétrimide.

Le volume inoculé a été uniformément réparti à l'aide d'un étaleur stérile jusqu'à absorption complète du liquide par la surface du milieu. Les boîtes ont ensuite été incubées à 25 °C pendant 48 heures, en position inversée (couvercles vers le bas).

2.2.1.4. Comptage et sélection des colonies

Après la période d'incubation, les colonies présentes sur chaque boîte de Pétri ont été dénombrées. Seules les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 15 et 300 a été retenu pour l'analyse.

Sur chacune des boîtes sélectionnées, trois colonies ont été prélevées de façon aléatoire, en tenant compte de la diversité morphologique observée. Ces colonies ont ensuite été soumises à des tests de confirmation pour vérifier leur appartenance présumée au genre *Pseudomonas*.

Sur gélose sélective à la cétrimide, les colonies suspectes de *Pseudomonas* peuvent présenter des morphologies variées (Figure 12). Elles sont généralement plates, à bords irréguliers. Certaines colonies peuvent également apparaître bombées et d'aspect muqueux (colonies mucoïdes), ce qui leur confère un aspect brillant. Elles peuvent être pigmentées ou non.

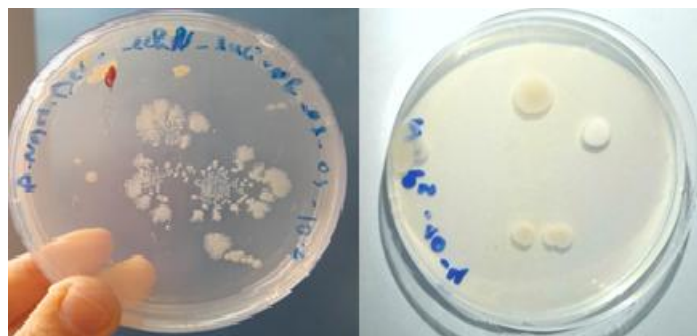


Figure 12 : Différents aspects de colonies suspectes de *Pseudomonas* (Photo personnelle)

2.2.1.5. Confirmation du genre *Pseudomonas*

✓ Subculture

Chacune des colonies présélectionnées a étéensemencée en stries sur des boîtes de gélose nutritive, afin de procéder à leur purification en vue de la confirmation. Les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant 24 à 48 heures.

À l'issue de l'incubation, une colonie bien isolée a été sélectionnée à partir de chaque boîte. Ces colonies isolées ont ensuite été utilisées pour les différents essais de confirmation.

✓ Coloration de Gram

Un frottis bactérien a été préparé sur lame à partir d'une colonie isolée, en présence d'une goutte d'eau distillée stérile. Après séchage à l'air libre, la lame a été fixée à la flamme. La coloration de Gram a ensuite été réalisée selon la méthode classique : application du violet de gentiane pendant une minute, suivi du lugol, puis d'une décoloration rapide à l'éthanol. Une contre-coloration à la fuchsine a été effectuée pendant 30 secondes.

Après séchage, l'observation a été réalisée au microscope optique avec objectif à immersion (×100). Les bactéries *Pseudomonas spp.* sont apparues sous forme de bacilles Gram négatif, se colorant en rose (Figure 13).

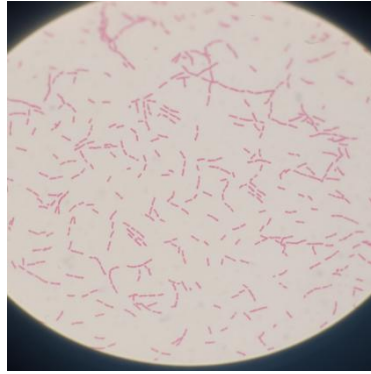


Figure 13 : Aspect microscopique des bactéries du genre *Pseudomonas* après coloration de Gram (G x100) (Photo personnelle).

✓ Test de l'oxydase

Ce test vise à détecter la présence de cytochrome oxydase, une enzyme clé de la chaîne respiratoire aérobie.

Pour le réaliser, un disque d'oxydase est déposé sur une lame et humidifié avec une goutte d'eau distillée stérile. Une colonie issue d'un milieu gélosé est ensuite prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et appliquée sur le disque. L'apparition d'une coloration violette dans quelques secondes indique un test positif, révélant la présence de l'enzyme (Figure14).

Pseudomonas présente une réaction positive, se traduisant par une coloration violette rapide du disque.



Figure 14 : Test oxydase (Photo personnelle)

✓ Test catalase

Ce test permet de mettre en évidence l'activité de l'enzyme catalase, capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et oxygène (O_2).

Pour sa réalisation, une goutte de H_2O_2 à 3 % est déposée sur une lame de verre. À l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée, puis délicatement mélangée à la goutte de réactif.

L'apparition immédiate de bulles d'oxygène indique un résultat positif. Dans ce protocole, *Pseudomonas aeruginosa* a produit une effervescence rapide au contact du peroxyde d'hydrogène, confirmant un résultat catalase positif (Figure15).



Figure 15 : Test catalase (Photo personnelle)

✓ Test TSI (Triple Sugar Iron)

Le milieu TSI permet d'évaluer la capacité de fermentation du glucose, du lactose, du saccharose, ainsi que la production de gaz et de sulfure d'hydrogène (H_2S).

Une colonie a été inoculée par pique dans le fond du tube (zone anaérobie) puis étalée sur la pente (zone aérobie). Le tube a été incubé à 37 °C pendant 24 heures.

Chez *Pseudomonas*, aucun changement de couleur n'a été observé : culot et pente sont restés rouges, indiquant l'absence de fermentation des sucres, de production de gaz ou de H_2S . Ce résultat est typique d'une bactérie non fermentative à métabolisme oxydatif (Figure1).



Figure 16 : Test TSI

2.2.1.6. Expression des résultats

Le dénombrement des *Pseudomonas spp.* a été réalisé en deux étapes distinctes :

- Dans un premier temps, un dénombrement global a été effectué sur le milieu sélectif, en comptant toutes les colonies ayant poussé à l'aide de la formule suivante :

$$N = (\Sigma C) / [V(n_1 + 0,1n_2)d]$$

où :

- ΣC : somme des colonies comptées sur les boîtes retenues ;
 - V : volume d'inoculum déposé (en mL) ;
 - n_1, n_2 : nombre de boîtes à la première et à la deuxième dilution ;
 - d : facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.
- Ensuite, le nombre réel de *Pseudomonas spp.* après confirmation (oxydase, catalase, etc.) a été estimé après confirmation par la formule :

$$a = (b / A) \times N$$

où :

- A : nombre de colonies testées (ici, 3) ;
- b : nombre de colonies confirmées comme *Pseudomonas spp.* ;
- N : résultat du dénombrement global (colonies présumées).

Les résultats sont exprimés en micro-organismes par gramme (produit solide), sous la forme d'un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10.

2.2.2. Identification présomptive de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

Une fois le genre *Pseudomonas* confirmé par les tests biochimiques de base (oxydase, catalase, TSI, etc.), une recherche plus ciblée de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* a été entreprise.

Bien qu'il n'ait pas été possible d'utiliser un système standardisé de type API 20 NE, généralement reconnu pour l'identification bactérienne, une série de tests biochimiques classiques a été mise en œuvre afin d'établir une identification présomptive de l'espèce.

Les résultats obtenus dans cette galerie de tests biochimiques classiques orientent fortement vers l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*, bien qu'une confirmation définitive par

techniques moléculaires ou galerie API n'ait pas été réalisée. L'identification repose donc sur un profil biochimique cohérent mais non absolu, ce qui justifie l'usage du terme identification présumptive.

Les tests réalisés incluent :

2.2.2.1. Test de réduction des nitrates

Le test de réduction des nitrates a été utilisé pour évaluer la capacité de *Pseudomonas aeruginosa* à réduire les nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-), voire en azote gazeux (N_2), par l'action d'enzymes spécifiques.

La souche a été inoculée dans un bouillon nitrate contenant du nitrate de potassium, puis incubée à une température de 35 à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

À la fin de l'incubation, cinq gouttes de réactif nitrate 1 et cinq gouttes de réactif nitrate 2 ont été ajoutées. Une coloration rouge apparaissant en moins d'une minute indique un résultat positif, témoignant de la présence de nitrites (Figure17).

En l'absence de coloration, une petite quantité de poudre de zinc a été ajoutée. Une coloration rouge après ajout de zinc indique que les nitrates n'ont pas été réduits (test négatif), tandis que l'absence de coloration suggère une réduction complète des nitrates en azote gazeux (test positif).

Un résultat positif, traduisant une capacité à réduire les nitrates en nitrites ou en azote gazeux, est compatible avec le profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 17 : Test de nitrate (Photo personnelle)

2.2.2.2. Utilisation de l'acétamide

Ce test permet d'évaluer la capacité d'un isolat bactérien à utiliser l'acétamide comme seule source d'azote. Lorsqu'il est métabolisé, l'acétamide libère de l'ammoniac, dont la présence est révélée par l'ajout du réactif de Nessler, qui réagit en formant une coloration jaune à brun-jaune proportionnelle à la concentration d'ammoniac.

Une colonie bactérienne a été inoculée dans un tube contenant un bouillon à l'acétamide, puis incubée à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, 1 à 2 gouttes de réactif de Nessler ont été ajoutées au tube.

Un changement de couleur vers le jaune pâle ou brun-jaune indique un test positif, correspondant à la production d'ammoniac. L'absence de coloration témoigne d'un test négatif (Figure 18).

Dans notre étude, une coloration jaune-brun a été observée, indiquant la libération d'ammoniac. Ce résultat est compatible avec le profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 18 : Test d'utilisation de l'acétamide

2.2.2.3. Test Mannitol-mobilité

Le test mannitol–mobilité permet d'évaluer simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité bactérienne. Le milieu utilisé est semi-solide, contenant du mannitol et du rouge de phénol comme indicateur de pH. La fermentation entraîne une acidification visible par un virage de couleur du rouge vers le jaune, tandis que la mobilité se manifeste par une diffusion de la croissance dans toute la masse du milieu à partir de la ligne de piqûre (Figure 19).

L'ensemencement a été réalisé par une piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur contenant la suspension bactérienne, puis incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

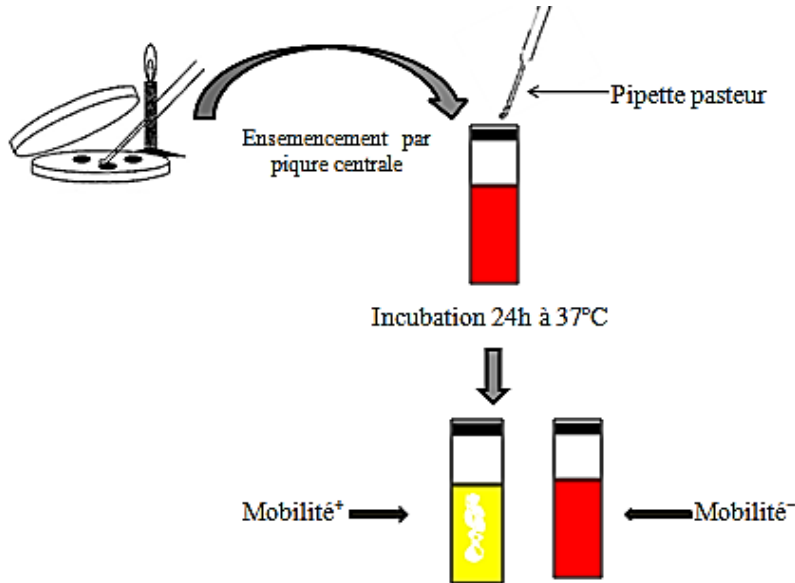


Figure 19 : Lecture du test mannitol- mobilité

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentent un test mannitol négatif (conservation de la couleur rouge), en lien avec leur métabolisme oxydatif, et une mobilité positive clairement visible par la diffusion dans le milieu semi-solide (Figure 20).



Figure 20 : Réaction du *Pseudomonas aeruginosa* dans le milieu mannitol-mobilité

2.2.2.4. Test de citrate de Simmons

Le test du citrate a pour objectif de déterminer si une souche bactérienne est capable d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Le milieu utilisé, citrate de Simmons, contient du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. L'utilisation du citrate entraîne une alcalinisation du milieu, traduite par un changement de couleur du vert au bleu.

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'une anse de platine stérile sur la surface inclinée du milieu. L'incubation a été faite à 37 °C pendant 24 heures.

Après incubation, une croissance bactérienne accompagnée d'un virage net du milieu au bleu a été observée, indiquant un test citrate positif (Figure21).

Certaines espèces du genre *Pseudomonas* sont capables d'assimiler le citrate. Le test positif observé dans ce cas correspond au profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*, qui utilise couramment le citrate comme source de carbone.

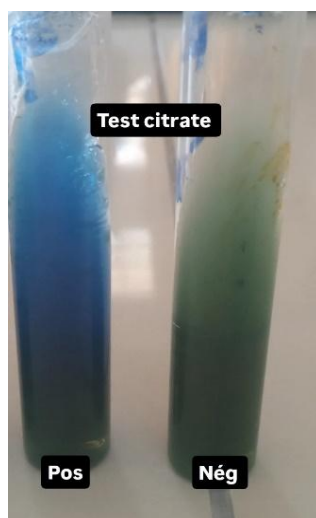


Figure 21 : Test de citrate de Simmons (Photo personnelle)

2.2.2.5. Tests uréase et TDA

Le test de l'uréase repose sur l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et en carbonate, entraînant une alcalinisation du milieu détectée par un virage de couleur du rouge de phénol vers le rose. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'expression de l'uréase est variable selon les souches ; le résultat peut donc être positif ou négatif. L'observation du milieu après 24 heures d'incubation à 37 °C permet d'interpréter cette activité (Figure22).



Figure 22 : Test de l'uréase (Photo personnelle).

Le test TDA, réalisé sur ce même milieu après incubation, consiste à détecter la désamination du tryptophane par l'ajout de réactif au perchlorure de fer. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, ce test est constamment négatif, en raison de l'absence de l'enzyme tryptophane désaminase. L'absence de coloration brun-rouge et le maintien d'une couleur jaune permettent donc de confirmer ce caractère (Figure 23).



Figure 23 : Test de TDA négatif (photo personnelle)

2.2.2.6. Activité arginine dihydrolase (ADH)

Le test ADH a été réalisé pour évaluer la capacité de l'isolat à produire l'enzyme arginine dihydrolase, qui hydrolyse l'arginine en ornithine, ammoniac et dioxyde de carbone. Cette réaction augmente le pH du milieu, entraînant un virage de couleur vers le violet.

L'essai a été effectué à l'aide d'un kit commercial de bouillons Moeller, composé :

- d'un tube ADH, contenant de l'arginine,
- et d'un tube témoin (T), ne contenant pas d'arginine.

Les deux bouillons étaient initialement de couleur violette, et ont été ensemencés avec la même souche bactérienne. Une fine couche de paraffine stérile a été ajoutée pour garantir des conditions anaérobies, suivie d'une incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

Après incubation, le tube ADH a conservé ou intensifié sa coloration violette, tandis que le tube témoin est resté inchangé ou a légèrement jauni dans certains cas (Figure 24).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont généralement capables de produire l'arginine dihydrolase.

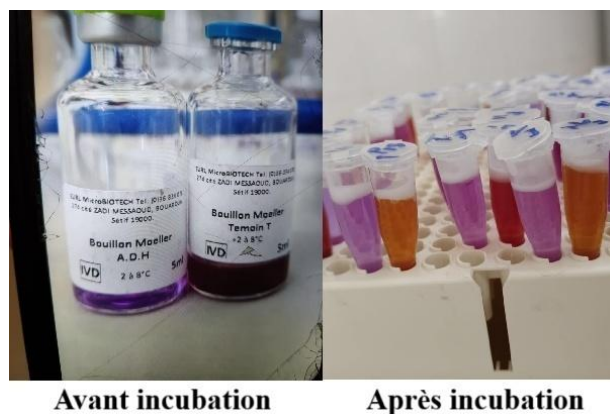


Figure 24 : Test ADH (Photo personnelle)

2.2.2.7. Production de fluorescéine sur milieu King B

Le milieu King B a été utilisé pour évaluer la capacité de la souche à produire de la fluorescéine. Ce milieu favorise la biosynthèse d'un pigment jaune-vert fluorescent observable sous lumière ultraviolette.

Après préparation du milieu et coulage en boîtes de Pétri stériles, une colonie bactérienne a été ensemencée en stries à la surface du milieu, puis incubée à 37 °C pendant 24 à 48 heures. L'observation a été réalisée sous lumière UV en utilisant une chambre UV (Figure 25).



Figure 25 : Chambre UV (Photo personnelle)

Une fluorescence jaune-vert a été détectée autour de la croissance bactérienne, indiquant une production de fluorescéine. Ce phénomène est fréquemment observé chez *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 26)

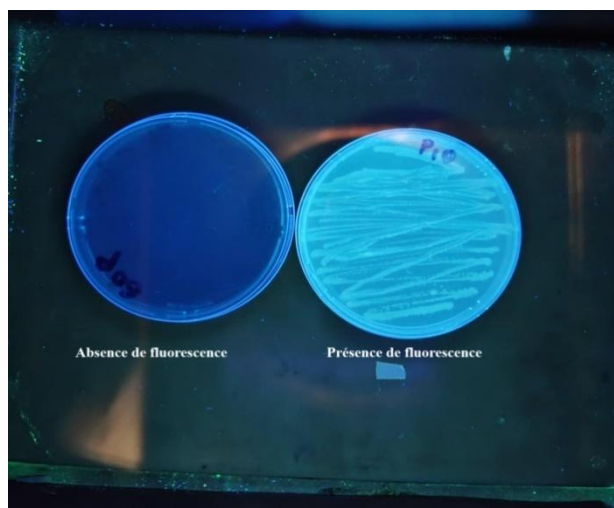


Figure 26 : Recherche de pigments fluorescents sur le milieu King B (Photo personnelle)

2.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

Après confirmation du genre *Pseudomonas* et l'identification présumptive de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*, l'ensemble des souches présumptives isolées ont été soumises à un test de sensibilité aux antibiotiques. L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, en utilisant des disques imprégnés d'antibiotiques placés sur chaque souche en mesurant le diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques après incubation.

2.2.3.1. Molécules d'antibiotiques testées

Un total de 9 antibiotiques appartenant à différentes familles a été testé. Le nom, l'abréviation, la concentration des disques ainsi que les valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour le genre *Pseudomonas* sont présentés dans le Tableau n°2 conformément aux normes du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024).

Tableau 2 : Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour *Pseudomonas* selon le CLSI (2024).

Famille et sous-famille		Nom	Abréviation	Charge des disques (µg)	R (≤ mm)	I (mm)	S (≥ mm)
Bêtalactamines	Céphalosporines	Céfotaxime	CTX	30	14	15-17	18
Bêtalactamines	Carbapénèmes	Imipénème	IMP	10	15	16-18	19
Bêtalactamines	Monobactames	Aztréonam	ATM	30	15	16-22	23
Fluoroquinolones		Ciprofloxacine	CIP	5	15	16-20	21
		Levofloxacine	LEV	5	13	14-16	17
Aminosides		Amikacine	AK	30	14	15-16	17
		Gentamicine	CN	10	12	13-14	15
		Tobramycine	TOB	10	12	13-14	15
Polymyxines		Colistine	CT	10	17	-	18

2.2.3.2. Technique

La préparation des boîtes de Pétri consiste à couler de la gélose Mueller-Hinton à une épaisseur uniforme de 4 mm, puis à laisser sécher la surface avant utilisation.

✓ Préparation de la suspension bactérienne

À partir d'une culture pure et jeune (18 à 24 heures) sur gélose nutritive, quelques colonies bien isolées et morphologiquement identiques ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ces colonies ont été mises en suspension dans 9 mL d'eau physiologique stérile, puis homogénéisées soigneusement (Figure 27).

La densité de la suspension a été vérifiée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible utilisé en tant que densitomètre. Selon les recommandations du CA-SFM (2024), l'absorbance

mesurée à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13, ce qui correspond à une turbidité équivalente à 0,5 Mc Farland, valeur standard pour les antibiogrammes.



Figure 27 : Préparation de la suspension bactérienne (Photo personnelle)

✓ Ensemencement du milieu gélosé Muller Hinton

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension, puis essoré contre la paroi du tube. La gélose Mueller-Hinton préalablement coulé dans une boîte de Petri est ensemencée par stries serrées en trois passages successifs en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'écouvillon est également passé sur la périphérie de la gélose.

✓ Application des disques d'antibiotiques

Les disques antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose à l'aide de pinces stériles, sans les déplacer une fois en place (Figure 28).

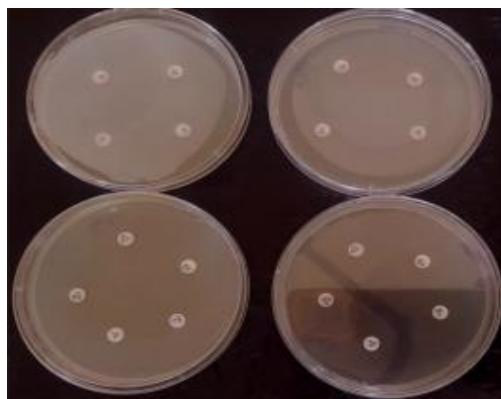


Figure 28 : Application des disques d'antibiotiques sur la gélose Muller-Hinton.

✓ Incubation

Les boîtes sont laissées en pré-diffusion pendant 30 minutes à température ambiante, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

2.2.3.3. Lecture des résultats

Les zones d'inhibition sont mesurées avec précision à l'aide d'un pied à coulisse (Figure 29). Les diamètres sont comparés aux seuils critiques précisés par le CLSI (2024), permettant de classer les souches dans l'une des catégories : (S) sensible, (I) intermédiaire ou (R) résistant.

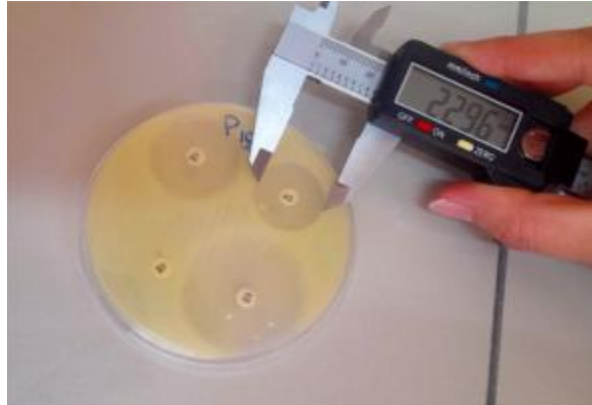


Figure 29 : Mesure des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques.

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats

1. Dénombrement de *Pseudomonas* spp

Dans cette partie, l'étude microbiologique a porté sur l'évaluation de la charge en *Pseudomonas* spp. dans des échantillons de viandes rouges et blanches. Les résultats obtenus ont été comparés aux critères microbiologiques fixés par l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016, publié dans le Journal Officiel Algérien du 2 juillet 2017, relatif aux denrées alimentaires.

Selon ce texte réglementaire, la valeur seuil (m) pour la contamination de la portion unitaire de viande rouge réfrigérée ou congelée est fixée à 10^5 UFC/g, tandis que la valeur maximale (M) au-delà de laquelle le produit est considéré non conforme est de 10^6 UFC/g. En l'absence de critères officiels pour les viandes blanches, cette même grille a été appliquée à titre indicatif pour ces échantillons.

1.1. Viande blanche

Les résultats obtenus pour cette catégorie de viandes sont présentés dans le tableau 1. Sur les quinze échantillons analysés (P1 à P15), un échantillon (P2) a été déclaré indénombrable (IND), ce qui reflète une contamination élevée au-delà des limites mesurables. Les résultats restants varient entre 7.0×10^2 UFC/g (P13) et 2.7×10^7 UFC/g (P10). La moyenne de contamination pour la viande blanche est de 2.3×10^6 UFC/g, soit plus de deux fois la valeur maximale autorisée.

Sur l'ensemble :

- 8 échantillons sont conformes ($\leq 10^5$ UFC/g),
- 4 échantillons présentent une contamination intermédiaire ($10^5 < N \leq 10^6$),
- 3 échantillons, dont un indénombrable, sont non conformes ($> 10^6$ UFC/g).

Tableau 3 : Taux de contamination en *Pseudomonas* spp des échantillons de viande blanche

Echantillon	Taux de contamination en <i>Pseudomonas</i> spp (UFC/g)	Interprétation selon le JORADP
P1	$5,5 \times 10^4$	Conforme
P2	IND	Non conforme
P3	$3,6 \times 10^4$	Conforme
P4	$2,2 \times 10^5$	Acceptable
P5	$2,0 \times 10^3$	Conforme
P6	$3,6 \times 10^5$	Acceptable
P7	$2,5 \times 10^5$	Acceptable
P8	$6,4 \times 10^3$	Conforme
P9	$8,7 \times 10^5$	Acceptable
P10	$2,7 \times 10^7$	Non conforme
P11	$3,5 \times 10^6$	Non conforme
P12	$1,6 \times 10^4$	Conforme
P13	$7,0 \times 10^2$	Conforme
P14	$9,5 \times 10^4$	Conforme
P15	$3,5 \times 10^3$	Conforme
Moyenne	$2,3 \times 10^6$	Non-conformité réglementaire

1.2. Viande rouge

Quinze échantillons de viande rouge (V1 à V15) ont été analysés. Les charges microbiennes en *Pseudomonas* spp s'étendent de $1,0 \times 10^2$ UFC/g (V9) à $9,9 \times 10^5$ UFC/g (V2) (Tableau 4). La moyenne de contamination calculée est de $1,3 \times 10^5$ UFC/g, une valeur située au-dessus du seuil m, mais inférieure au seuil M.

- 11 échantillons sont conformes ($\leq 10^5$ UFC/g),
- 4 échantillons (V2, V5, V8 et V12) sont acceptables mais à surveiller,
- Non conformes ($> 10^6$) : 0 échantillon

Tableau 4 : Taux de contamination en *Pseudomonas* spp des échantillons de viande rouge

Echantillon	Taux de contamination en <i>Pseudomonas</i> spp (UFC/g)	Interprétation selon le JORADP
V1	$1,4 \times 10^4$	Conforme
V2	$9,9 \times 10^5$	Acceptable
V3	$3,2 \times 10^4$	Conforme
V4	$4,1 \times 10^3$	Conforme
V5	$4,4 \times 10^5$	Acceptable
V6	$8,2 \times 10^2$	conforme
V7	$6,0 \times 10^2$	Conforme
V8	$2,6 \times 10^5$	Acceptable
V9	$1,0 \times 10^2$	Conforme
V10	$1,3 \times 10^3$	Conforme
V11	$7,4 \times 10^4$	Conforme
V12	$1,8 \times 10^5$	Acceptable
V13	$8,7 \times 10^3$	Conforme
V14	$2,0 \times 10^3$	Conforme
V15	$1,5 \times 10^3$	Conforme
Moyenne	$1,3 \times 10^5$	Acceptable

La viande rouge étudiée présente donc une qualité microbiologique globalement acceptable, bien que certains cas nécessitent un suivi préventif.

2. Identification de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

Sur l'ensemble des échantillons traités, 8 souches ont été identifiées comme présomptivement *Pseudomonas aeruginosa*, répondant à l'ensemble ou à la majorité des critères biochimiques testés. Il s'agit des souches suivantes :

- Viande blanche (Poulet) : P1, P3, P6, P10, P11, P12, P13
- Viande rouge : V9

Les autres souches ne présentent pas le profil biochimique typique complet de l'espèce ou ont échoué à un ou plusieurs tests discriminants majeurs, et sont donc considérées comme appartenant à d'autres espèces du genre *Pseudomonas*.

La fréquence d'isolement des souches présomptives a été calculée séparément pour les viandes blanches et rouges, ainsi que pour l'ensemble des échantillons analysés. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Fréquence d'isolement des souches présomptives *Pseudomonas aeruginosa*

Type de viande	Nombre d'échantillons	Souches de <i>P.aeruginosa</i>	Taux de contamination (%)
Viande blanche	15	7	46,7 %
Viande rouge	15	1	6,7 %
Total	30	8	26,7 %

3. Résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'étude de la sensibilité des souches présomptives de *Pseudomonas aeruginosa* aux 9 antibiotiques testées sont présentés dans le Tableau 6

Tableau 6 : Interprétation des diamètres d'inhibition (mm) des souches présumptives de *Pseudomonas aeruginosa* selon CLSI (2024)

Famille	Sous-famille	ATB	P1	P3	P6	P10	P11	P12	P13	V9	Taux de résistance (%)
β - lactamines	Céphalosporines	CTX	R	R	R	S	S	R	R	S	62,5%
	Carbapénèmes	IMP	R	R	R	R	R	R	R	R	100%
	Monobactames	ATM	R	S	I	S	S	R	R	S	37,5%
Fluoroquinolones		CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	0%
		LEV	S	S	S	S	S	S	S	S	0%
Aminosides		AK	S	S	S	S	S	S	S	S	0%
		CN	S	S	S	S	S	S	S	S	0%
		TOB	S	S	S	S	S	S	S	S	0%
Polymyxines		CT	S	S	S	R	S	S	S	R	25%

L'analyse de ces résultats révèle un taux global de résistance de 25% (18 résistances sur 72 tests antibiotiques), avec aucune souche pan-sensible (**0%**). Toutes les souches testées (100%) ont présenté une résistance à au moins un antibiotique (principalement l'imipénème).

En outre, trois souches (P1, P12, P13) ont présenté une résistance à trois antibiotiques (37,5%) appartenant à 3 sous-familles distinctes de β -lactamines (Tableau7).

Tableau 7 : Profils de résistance par souche

Souche	Antibiotiques concernés par la résistance	Nombre d'ATB résistants
P1	CTX, IMP, ATM	3
P3	CTX, IMP	2
P6	CTX, IMP	2
P10	IMP, CT	2
P11	IMP	1
P12	CTX, IMP, ATM	3
P13	CTX, IMP, ATM	3
V9	IMP, CT	2

Nos résultats montrent que les carbapénèmes (imipénème) présentent le taux de résistance le plus élevé, avec 100 % des souches testées résistantes. Viennent ensuite les céphalosporines (cefotaxime), avec un taux de résistance de 62,5 %. Les monobactames (aztréonam) affichent une résistance intermédiaire de 37,5 %. En revanche, les fluoroquinolones, notamment la ciprofloxacine et la lévofloxacine, ont montré une efficacité totale, avec 0 % de résistance enregistrée. Les aminosides (amikacine, gentamicine et tobramycine) ont également présenté une efficacité complète, sans aucune souche résistante. Enfin, la colistine, une polymyxine utilisée en dernier recours, a présenté un taux de résistance modéré de 25 %.

Discussion

Assurer la qualité microbiologique et la sécurité de la viande de volaille demeure un défi majeur pour l'industrie agroalimentaire à l'échelle mondiale. Bien que de nombreuses recherches aient été consacrées à la détection de pathogènes tels que *Salmonella*, *Listeria* et *Campylobacter*, notamment en lien avec leur comportement sous différentes conditions de transformation, de décontamination ou de stockage, la contamination de la viande par des bactéries d'altération reste relativement peu étudiée.

Cette sous-représentation dans la littérature est d'autant plus préoccupante que la viande fraîche est particulièrement périssable. Elle présente une durée de conservation courte, ne dépassant généralement pas 5 à 7 jours en condition aérobie sous réfrigération (Can, 2022), durée encore réduite lorsque la viande est hachée, en raison d'une meilleure dispersion des contaminants microbiens et d'une augmentation de la croissance bactérienne (Tsafrakidou *et al.*, 2023).

Dans ce contexte, la flore d'altération est dominée par des bactéries psychrotrophes aérobies, en particulier les espèces du genre *Pseudomonas*, reconnues comme les principaux agents responsables de la détérioration des viandes rouges et blanches à basse température. Leur prédominance sur d'autres genres tels que *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Moraxella* ou *Alcaligenes* a été bien documentée (Corry, 2007), et justifie l'intérêt croissant pour la quantification et la caractérisation de ces micro-organismes dans les produits carnés.

Dans cette étude, et sur un total de 30 échantillons de viande analysés dans cette étude, la moyenne globale de contamination en *Pseudomonas* spp. a été estimée à $1,2 \times 10^6$ UFC/g. Selon l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016, publié dans le JORADP du 2 juillet 2017, la viande est considérée :

- conforme si la charge est $\leq 10^5$ UFC/g (valeur seuil m),
- acceptable entre $10^5 < N \leq 10^6$ UFC/g (valeur maximale M),
- non conforme au-delà de 10^6 UFC/g.

Ainsi, la moyenne globale obtenue durant cette étude dépasse la valeur maximale autorisée, ce qui indique une non-conformité réglementaire.

Ces résultats pourraient être attribués à divers facteurs extrinsèques liés aux pratiques d'hygiène tout au long de la chaîne de production. Des manipulations post-abattage inappropriées, des conditions de transport ou de stockage réfrigéré non conformes, ainsi que des contaminations croisées provenant de l'environnement, des équipements ou du personnel sont autant de vecteurs potentiels de contamination.

Laura et Mauro (2007) ont rapporté que ce genre bactérien était responsable d'environ 90% des cas de détérioration des aliments entreposés en conditions aérobies. Par ailleurs, Corry (2007) a mis en évidence une relation directe entre la concentration initiale de *Pseudomonas* sur la viande et sa durée de conservation en conditions aérobies réfrigérées. Cela souligne l'importance de mieux comprendre la dynamique de contamination par ce genre

bactérien, notamment dans une optique de maîtrise de la qualité microbiologique des produits carnés.

Nos résultats corroborent ceux rapportés par Yagoub (2009), qui a identifié *Pseudomonas* comme le principal groupe de bactéries psychrotrophes isolé de carcasses réfrigérées conservées entre 7 et 14 jours. D'autres études (Handley *et al.*, 2018 ; Rouger *et al.*, 2018 ; Chen *et al.*, 2020) confirment également la prédominance de *Pseudomonas* sur les carcasses de volaille en abattoir, en soulignant leur forte capacité d'adaptation aux températures froides et à des conditions de conservation prolongées.

Par catégorie, la viande blanche présente une contamination moyenne élevée de $2,3 \times 10^6$ UFC/g, montrant une non-conformité microbiologique marquée des viandes blanches, avec une moyenne de contamination en *Pseudomonas* spp. dépassant largement la limite maximale autorisée. Plus du tiers des échantillons analysés sont au-delà du seuil réglementaire, ce qui met en évidence un niveau de contamination préoccupant.

En revanche, les échantillons de viande rouge, avec une moyenne de $1,3 \times 10^5$ UFC/g, présentent une charge moyenne située entre les seuils m et M, ce qui les classe dans la catégorie acceptable mais à surveiller. Bien qu'aucun échantillon ne soit non conforme, la présence de plusieurs cas proches de la limite supérieure nécessite un suivi régulier pour garantir la sécurité microbiologique de ces produits sur le marché.

Ainsi, les résultats obtenus révèlent une contamination plus importante par *Pseudomonas* dans la viande blanche comparée à la viande rouge.

Ces observations rejoignent celles de Wong *et al.* (2015), qui ont noté un taux d'isolement de *Pseudomonas* plus élevé dans la viande de poulet (63 %) comparé à la viande rouge (38 %). Des résultats similaires ont été observés par Bantawa *et al.* (2018), qui ont montré un pourcentage plus élevé de *Pseudomonas* chez le poulet (46,6 %) que chez le mouton (40 %) et Chikaet *al.* (2016) au Nigéria où les échantillons de poulet étaient plus contaminés par *P. aeruginosa* (28 %) que les échantillons de mouton (20 %).

De même, les données rapportées par Bloomfield *et al.* (2024) confirment une contamination plus marquée par *Pseudomonas aeruginosa* dans le poulet que dans d'autres types de viandes. Ces auteurs attribuent cette prévalence accrue à la manipulation intensive de la volaille, qui favoriserait les contaminations croisées tout au long des étapes post-abattage, notamment lors de la transformation, de l'emballage et du stockage. Par ailleurs, Can (2022) et Tsafrakidou *et al.* (2023) soulignent que la viande de volaille crue est particulièrement

sujette à la détérioration, notamment en raison de caractéristiques intrinsèques telles qu'un pH généralement supérieur à 6,0, ainsi qu'une activité de l'eau (A_w) élevée, qui créent ensemble des conditions propices au développement de micro-organismes psychrotrophes tels que les *Pseudomonas*.

Identification de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

À la suite de l'évaluation quantitative de la charge microbienne en *Pseudomonas* spp, une démarche d'identification spécifique a été engagée pour détecter la présence de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Pour ce faire, une souche bactérienne a été isolée de chaque échantillon ayant servi à l'énumération, et soumise à une galerie biochimique classique permettant l'identification présomptive fondée sur les caractéristiques phénotypiques et enzymatiques reconnues de l'espèce. Cette méthode, bien que largement utilisée en microbiologie alimentaire, permet uniquement une identification présomptive. En l'absence de confirmation moléculaire (PCR spécifique, séquençage 16S) ou d'identification automatisée (type API ou VITEK), les résultats obtenus doivent être interprétés comme une approximation du profil de l'espèce recherchée, et non comme une confirmation définitive.

Dans cette étude, *P. aeruginosa* a été détecté dans 26,7 % des cas. La répartition selon le type de viande montre une prévalence de 46,7 % dans la viande blanche, contre seulement 6,7 % dans la viande rouge.

Le taux relativement élevé (26,7 %) d'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* observé dans notre étude pourrait être lié à sa capacité à former des biofilms, un facteur de virulence majeur chez cette espèce. Toutefois, comme le soulignent Deiab *et al.* (2023), cette capacité varie considérablement d'une souche à l'autre, certaines présentent une production de biofilm marquée, tandis que d'autres n'en forment que faiblement, voire pas du tout.

La fréquence d'isolement de souches présomptives *P. aeruginosa* est nettement plus élevée dans la viande blanche que dans la viande rouge. Ce résultat corrobore les données de charge microbienne globale, qui indiquaient déjà une contamination plus importante des viandes blanches.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Dans cette étude, les souches présomptives de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir des échantillons de viandes ont été soumises à un test de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Neuf antibiotiques représentant différentes familles ont été évalués. Les résultats révèlent une variabilité importante des profils de

résistance, avec certains antibiotiques totalement efficaces tandis que d'autres présentent des taux de résistance élevés.

L'analyse des antibiogrammes montre une résistance élevée aux β -lactamines, en particulier aux carbapénèmes (100 %) et aux céphalosporines (62,5 %), ce qui soulève des inquiétudes quant à l'efficacité de ces antibiotiques, souvent utilisés en dernier recours. À l'inverse, aucune résistance n'a été détectée pour les fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine) et les aminosides (amikacine, gentamicine, tobramycine), indiquant une bonne sensibilité. La colistine présente un taux de résistance de 25 %

La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques habituellement prescrits a augmenté durant les études suscitées. Ce constat est partagé par d'autres auteurs tels que (Kaushik et al., 2001). Ceci compromet leur efficacité clinique et rend plus difficile le choix du traitement. Dans ces études, *P. aeruginosa* présentait des résistances élevées aux bêtalactamines. En effet plus du tiers des souches étaient résistantes à ceftazidime (CAZ) et aztréonam (AZT). Le taux de résistance à l'imipénème (IPM) était nettement élevé. Ce résultat est cohérent avec celui rapporté par (Khorvash et al., 2017). en Iran, qui ont observé un taux de résistance à l'imipénème de 97,9 % parmi les isolats de *P. aeruginosa* testés. En Égypte, des taux de résistance à l'imipénème de 78,3 % et 72 % ont été précédemment signalés par (Abaza et al., 2017) et (Diab et al., 2013) , respectivement. En revanche, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par (Farhan et al., 2019). et (Elmaraghy et al., 2019) en Égypte, qui ont constaté des taux de résistance à l'imipénème de seulement 8 % et 14,9 %, respectivement.

En comparaison avec les résultats de Mellouk et Meradji (2017), les données actuelles confirment une aggravation du profil de résistance. Sur 70 isolats, Mellouk et Meradji avaient déjà observé des taux élevés de résistance à la ceftazidime (64,28 %), à l'imipénème (45,71 %) et à plusieurs autres antibiotiques. Néanmoins, ils rapportaient encore une sensibilité complète à la colistine, contrairement aux résultats récents. De plus, les résistances aux aminosides et fluoroquinolones étaient plus élevées en 2017 que dans notre étude actuelle, ce qui pourrait refléter une modification des pratiques thérapeutiques.

Ces résultats rejoignent partiellement ceux de Meradji et al. (2016), qui avaient également observé divers niveaux de résistance aux β -lactamines parmi les souches de *P. aeruginosa* testées. Cependant, dans leur étude, les fluoroquinolones (en particulier la ciprofloxacine et la lévofloxacine) figuraient parmi les molécules les plus actives contre les isolats étudiés, ce qui est cohérent avec nos observations actuelles. Cette concordance confirme que, malgré une progression globale de la résistance, certaines molécules comme les

fluoroquinolones restent des options thérapeutiques efficaces dans certains contextes, probablement en raison d'une moindre pression sélective ou d'un usage plus ciblé.

Nos données révèlent que 37,5% des souches (P1, P12, P13) répondent aux critères techniques de multirésistance (MDR) avec une résistance à trois sous-familles de β -lactamines (céphalosporines, carbapénèmes, monobactames). Cependant, cette résistance multiple intra-famille (ici, β -lactamines) reflète un mécanisme unique plutôt qu'une vraie multirésistance. Ces souches rendent inefficace toute la classe des β -lactamines anti-*Pseudomonas*.

La détection de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques dans les denrées alimentaires représente une menace sérieuse pour la santé publique. En effet, la chaîne alimentaire constitue un vecteur potentiel de dissémination silencieuse des gènes de résistance, notamment vers la flore intestinale humaine. Cette transmission peut se produire par ingestion directe d'aliments contaminés ou via une manipulation inadéquate, facilitant ainsi l'émergence d'infections opportunistes difficiles à traiter. Les bactéries multirésistantes présentes dans les aliments peuvent aussi servir de réservoirs de résistance, transférant leurs déterminants génétiques à des pathogènes humains par des mécanismes horizontaux, aggravant considérablement le problème de l'antibiorésistance.

Dans le cadre de cette étude, seuls les isolats présumptifs de *Pseudomonas aeruginosa* ont été soumis à des tests de sensibilité aux antibiotiques, en raison de certaines limitations techniques. Cependant, il est raisonnable de penser que si les conditions avaient permis d'analyser également les autres espèces du genre *Pseudomonas* non identifiées à l'espèce, des profils de résistance variés, voire plus alarmants, auraient pu être mis en évidence. Cela suggère que l'ampleur réelle du phénomène de résistance dans ces matrices alimentaires est probablement sous-estimée, et renforce l'urgence de mettre en place des programmes de surveillance plus larges et systématiques.

CONCLUSION

Conclusion

L'étude microbiologique menée sur 30 échantillons de viandes rouges et blanches a révélé une contamination significative par des souches du genre *Pseudomonas* spp., avec une prédominance marquée dans les viandes blanches. La moyenne globale de contamination dépasse les seuils réglementaires fixés pour les viandes rouges, et dans le cas des viandes blanches, la majorité des échantillons analysés étaient non conformes, traduisant une altération microbiologique préoccupante.

Cette forte présence de *Pseudomonas* spp., et notamment de souches présomptives de *Pseudomonas aeruginosa* (détectées dans près de 27 % des échantillons), met en lumière l'impact critique de pratiques sanitaires inadéquates. La contamination est très probablement favorisée par des facteurs extrinsèques tels que l'abattage artisanal, les manipulations post-abattage, le conditionnement rudimentaire, l'absence de chaîne du froid lors du transport, ainsi que la vente dans des environnements exposés (étals de rue, marchés informels). À cela s'ajoutent des caractéristiques physico-chimiques propres à la viande blanche qui favorisent la croissance rapide des bactéries psychrotrophes.

D'un point de vue de santé publique, la détection de *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie opportuniste connue pour sa capacité à former des biofilms et sa multirésistance, est particulièrement préoccupante. L'antibiogramme réalisé sur les souches présomptives de cette espèce a révélé une résistance élevée aux antibiotiques de la famille des β -lactamines, notamment aux carbapénèmes (100 % de résistance) et aux céphalosporines (62,5 %). Cette situation compromet l'efficacité des antibiotiques les plus utilisés dans les cas d'infections graves à bacilles Gram négatif.

Bien que les fluoroquinolones et les aminosides se soient montrés globalement efficaces dans cette étude, une résistance à la colistine a été détectée dans 25 % des cas, ce qui représente une alerte majeure. La colistine étant considérée comme un antibiotique de dernier recours, la perte de son efficacité pourrait avoir des répercussions cliniques dramatiques importantes.

Ces résultats traduisent une tendance alarmante à l'augmentation des profils de résistance chez les bactéries environnementales, probablement liée à l'utilisation excessive ou non réglementée d'antibiotiques en élevage. Ils soulignent l'importance d'un encadrement strict de l'usage vétérinaire des antibiotiques, ainsi que la nécessité de renforcer les programmes de surveillance microbiologique tout au long de la chaîne agroalimentaire.

Enfin, cette étude appelle à une vigilance accrue, notamment dans la filière avicole, à travers la mise en œuvre de bonnes pratiques d'hygiène, de transport, de conservation et de transformation, afin de limiter l'exposition du consommateur aux agents pathogènes multirésistants.

RÉFÉRENCES

Références

A

- Abaza, A. F., El Shazly, S. A., Selim, H. S., & Aly, G. S. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* producteur de métallob- β -lactamase dans un établissement de santé à Alexandrie. *Polish Journal of Microbiology*, 66, 297–308.
- Abraham, E. P., Chain, E., Fletcher, C. M., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., & Florey, H. W. (1941). Nouvelles observations sur la pénicilline. *The Lancet*, 238(6155), 177–189.
- Aminov, R. I. (2010). Brève histoire de l'ère des antibiotiques : leçons apprises et défis futurs. *Frontiers in Microbiology*, 1, 134.
- Archambaud, M. (2009). Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques [Mémoire de Master, Université Paul Sabatier, Toulouse].
- Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., De Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., De Zutter, L., & Van Hoof, J. (1999). Étude taxonomique numérique de la flore de *Pseudomonas* isolée de la viande de volaille. *Journal of Applied Microbiology*, 87(1), 15–28.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., et al. (2018). Résistance aux antibiotiques : aperçu d'une crise mondiale. *Infection and Drug Resistance*, 11, 1645–1658.

B

- Bantawa, K., Rai, K., Limbu, D. S., & Subba, P. (2018). Pathogènes bactériens d'origine alimentaire dans la viande crue commercialisée à Dharan, dans l'est du Népal. *BMC Research Notes*, 11, 618. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3739-0>
- Belay, W. Y., Getachew, M., Tegegne, B. A., et al. (2024). Mécanismes de la résistance antibactérienne, stratégies et antimicrobiens de nouvelle génération pour contenir la résistance. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1444781.
- Benabid, R. (2009). *Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à Pseudomonas aeruginosa* [Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne].

- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51.
- Bloomfield, S. J., Palau, R., Holden, E. R., et al. (2024). Caractérisation génomique des *Pseudomonas spp.* dans les aliments : implications pour le gâchis, la résistance antimicrobienne et l'infection humaine. *BMC Microbiology*, 24, 20.
- Bonomo, R. A., & Szabo, D. (2006). Mécanismes de résistance multidroge chez les espèces *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*, 43(Suppl. 2), S49–S56. <https://doi.org/10.1086/504477>
- Bourahla, N., & Haddache, W. (2015). *Étude de la résistance du Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015* [Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou].
- Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* : tous les chemins mènent à la résistance. *Trends in Microbiology*, 19(8), 419–426.
- Burt, S. (2004). Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments – une revue. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Les aminosides ou aminoglycosides. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(558), 13–16.

C

- Can, H. Y. (2022). Investigation des espèces de *Pseudomonas* dans des échantillons de pilons de poulet. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15(2), 139–143.
- Chaker, H. (2012). Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : Implication des métabolites du tryptophane [Thèse de doctorat, Université de Grenoble]. HAL Archives Ouvertes. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00749532>
- Chambers, J. R., Cherny, K. E., & Sauer, K. (2017). La sensibilité des cellules dispersées de *Pseudomonas aeruginosa* aux agents antimicrobiens dépend du signal de dispersion et de la classe de l'agent utilisé. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(11), e01176-17.

- Chen, S. H., Fegan, N., Kocharunchitt, C., Bowman, J. P., & Duffy, L. L. (2020). Changements de la diversité bactérienne sur les carcasses de poulet dans une chaîne australienne de transformation. *Food Microbiology*, 86, 103350.
- Chika, E., Charles, E., Ifeanyichukwu, I., et al. (2016). Détection phénotypique de β -lactamase AmpC chez des isolats anaux de *Pseudomonas aeruginosa* dans un abattoir nigérian. *Archives of Clinical Microbiology*, 7, 2.
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Antibiotiques tétracyclines : mode d'action, applications, biologie moléculaire et épidémiologie de la résistance bactérienne. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65, 232–260.
- Clave, D. (2011). *Fiche technique bactériologie : Pseudomonas aeruginosa*. Centre Toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique.
- Cohen, N. R., Lobritz, M. A., & Collins, J. J. (2013). Persistance microbienne et chemin vers la résistance aux médicaments. *Cell Host & Microbe*, 13, 632–642.
- Costerton, J. W., & Anwar, H. (1994). *Pseudomonas aeruginosa* : Le microbe et le pathogène. Dans *Pseudomonas aeruginosa : Infections and Treatment* (pp. 1–17). CRC Press.

D

- D'Argenio, D. A., Calfee, M. W., Rainey, P. B., & Pesci, E. C. (2002). Autolyse et autoaggrégation chez les mutants de morphologie coloniale de *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 184(23), 6481–6489.
- Denis, F., Ploy, M. C., Martin, C., Bingen, E., & Quentin, R. (2011). *Bactériologie médicale : Techniques usuelles* (2e éd.). Elsevier Masson.
- Diab, M., Fam, N., El-Said, M., El-Defrawy, E. E.-D. I., & Saber, M. (2013). Présence de métallo- β -lactamases VIM-2 chez *Pseudomonas aeruginosa* résistantes et sensibles à l'imipénem dans des isolats cliniques d'Égypte. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 4465–4472.
- Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Profil microbien : *Pseudomonas aeruginosa* – pathogène opportuniste et organisme modèle. *Microbiology*, 166(1), 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>

- Domagk, G. (1935). Contribution à la chimiothérapie des infections bactériennes. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 61(7), 250–253.

E

- Ehrlich, P., & Hata, S. (1910). *Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen* : (Syphilis, Rückfallfieber, Hühnerspirillose, Frambösie). Berlin : Julius Springer.
- Elhariri, M., Hamza, D., Elhelw, R., et al. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* producteur de β -lactamase à spectre étendu (ESBL) chez les chameaux en Égypte : risque potentiel pour l'homme. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 16, 1–6.
- Elmaraghy, N., Abbadi, S., Elhadidi, G., Hashem, A., & Yousef, A. (2019). Gènes de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* isolées à l'Université du canal de Suez selon le site d'infection et la résistance antibiotique. *International Journal of Clinical Microbiology*, 2, 8–19.
- Elmeskini, K. (2011). *Étude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, p. 43–60.
- Elsayed, M. S. A., Ammar, A. M., Al Shehri, Z. S., et al. (2016). Répertoire de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* issues de fermes avicoles, avec détection de résistances variées aux antimicrobiens et aux extraits végétaux. *Cell & Molecular Biology*, 62, 124.
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotiques : classification et mécanismes d'action avec un accent sur les perspectives moléculaires. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 4, 90–101.

F

- Farhan, S. M., Ibrahim, R. A., Mahran, K. M., Hetta, H. F., & Abd El-Baky, R. M. (2019). Profil de résistance antimicrobienne et distribution génétique moléculaire des producteurs de métallob- β -lactamases chez *Pseudomonas aeruginosa* isolées des hôpitaux de Minya. *Infection and Drug Resistance*, 12, 2125–2133.
- Figarella, J., Leyral, G., & Terret, M. (2007). *Microbiologie générale et appliquée*. Paris : Delagrave, p. 106–108.

- Fisher, R. A., Gollan, B., & Helaine, S. (2017). Infections bactériennes persistantes et cellules persisteres. *Nature Reviews Microbiology*, 15, 453–464.
- Fleming, A. (1929). Sur l'action antibactérienne des cultures d'un *Penicillium*, avec référence spéciale à leur usage dans l'isolement de *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 10(3), 226.
- François, V. B., & Paul, T. (2008). *Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse*. Thèse de doctorat, Université de Louvain, Bruxelles.

G

- Gao, X., Li, C., He, R., Zhang, Y., Wang, B., Zhang, Z., et al. (2023). Progrès de la recherche sur les amines biogènes dans les aliments fermentés traditionnels : mécanismes de formation, méthodes de détection et de contrôle. *Food Chemistry*, 405, 134911.
- Gaudy, C., Buxeraud, J., & Mereghetti, L. (2005). *Antibiotiques (Pharmacologie et Thérapeutique)*. Paris : Elsevier, 296 p.
- Green, S. K., Schroth, M. N., Cho, J. J., Kominos, S. K., & Vitanza-Jack, V. B. (1974). Les plantes agricoles et le sol comme réservoir de *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology*, 28(6), 987–991.

H

- Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., et al. (2024). Action et résistance des antibiotiques : mise à jour des mécanismes, de la propagation, des facteurs influents et des approches alternatives pour lutter contre la résistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1305294.
- Handley, J. A., Park, S. H., Kim, S. A., & Ricke, S. (2018). Profils microbiens de poulets industriels pendant l'éviscération et la réfrigération, et microorganismes indicateurs potentiels. *Frontiers in Microbiology*, 9, 345.
- Hansen, S. K., Rau, M. H., Johansen, H. K., Ciofu, O., Jelsbak, L., Yang, L., et al. (2012). Évolution et diversification de *Pseudomonas aeruginosa* dans les sinus

paranasaux d'enfants atteints de mucoviscidose : implications pour l'infection pulmonaire chronique. *ISME Journal*, 6(1), 31–45.

- Høiby, N., Ciofu, O., & Bjarnsholt, T. (2010). Biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose. *Future Microbiology*, 5(11), 1663–1674.
- Hong, D. J., Bae, I. K., Jang, I. H., Jeong, S. H., Kang, H. K., & Lee, K. (2015). Épidémiologie et caractéristiques des *Pseudomonas aeruginosa* produisant des métallo- β -lactamases. *Infection & Chemotherapy*, 47(2), 81–97.
- Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotiques : passé, présent et avenir. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72–80.

J

- Jawher, I. M., & Hasan, M. G. (2022). Identification moléculaire de *Pseudomonas aeruginosa* dans la viande en vente au détail à Mossoul via la PCR. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(4), 1083–1087.

K

- Kaur Sodhi, K., & Singh, C. K. (2022). Progrès récents dans la remédiation durable des antibiotiques : une revue. *Total Environment Research Themes*, 3–4, 100008.
- Khorvash, F., Yazdani, M., Shabani, S., & Soudi, A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* producteur de métallo- β -lactamases (VIM, IMP, SME, AIM) dans des isolats cliniques de soins intensifs à Ispahan, Iran. *Advances in Biomedical Research*, 6, 147–152.
- Khosravi, A. D., Motahar, M., & Abbasi Montazeri, E. (2017). Fréquence des intégrons de classe 1 et 2 chez *Pseudomonas aeruginosa* isolées de patients brûlés à Ahvaz, Iran. *PloS One*, 12(8), e0183061.
- Kumari, S., Harjai, K., & Chhibber, S. (2009). Caractérisation de bactériophages spécifiques à *Pseudomonas aeruginosa* PAO isolés à partir d'échantillons d'eaux usées. *American Journal of Biomedical Sciences*, 1(2), 91–102.

L

- La Bauve, A. E., & Wargo, M. J. (2012). Croissance et maintenance en laboratoire de *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Protocols in Microbiology*, 0(6), Unité 6E.1.

- Laura, F., & Mauro, S. (2007). Caractérisation de *Pseudomonas spp.* isolées d'aliments. *Annales de Microbiologie*, 57(1), 39–47.
- Lederberg, J. (2000). *Pseudomonas*. Dans J. Lederberg (Éd.), *Encyclopédie de Microbiologie* (2e éd., Vol. 3, pp. 876–891). Academic Press.
- Li, X., Gu, N., Huang, T. Y., Zhong, F., & Peng, G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: un pathogène typique formant des biofilms et un pathogène émergent mais sous-estimé dans le traitement des aliments. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1114199.
- Lopez, M. E. S., Carvalho, M. M. D., Gouvêa, D. M., Batalha, L. S., Neves, I. O., & Mendonça, R. C. S. (2015). Isolement et caractérisation de bactériophages lytiques comme alternative à la prévention des *Pseudomonas spp.* dans l'industrie avicole. *MOJ Food Processing and Technology*, 1(3), 00018, 1–6.

M

- Ma, L. Z., Wang, D., Liu, Y., Zhang, Z., & Wozniak, D. J. (2022). Régulation de la biosynthèse et de la dégradation des exopolysaccharides de biofilm chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Annual Review of Microbiology*, 76, 413–433.
- Mandal, A. (2019). Le mécanisme de résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas* expliqué par de nouvelles recherches. Consultée le 11 juin 2025. Disponible sur : <https://www.newsmedical.net/news/20191030/Mechanism-for-antibiotic-resistance-in-Pseudomonas-explained-in-new-research.aspx>
- Martak, D. (2021). Épidémiologie des bacilles à Gram négatif dans la communauté, l'environnement et la nourriture. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne Franche-Comté.
- Maurice, N. M., Bedi, B., & Sadikot, R. T. (2018). Biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* : réponse de l'hôte et implications cliniques dans les infections pulmonaires. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 58, 428–439.
- McDonnell, G., & Russell, A. D. (1999). Antiseptiques et désinfectants : activité, mode d'action et résistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179.

- Mderreg, B. (2015). *Infections à Pseudomonas aeruginosa en réanimation : Évolution de la résistance aux antibiotiques à travers le temps* [Thèse de doctorat d'État, Université Mohammed V, Rabat].
- Mellouk, F.-Z., &Meradji, S. (2017). Méthodes de détection phénotypique des métallo- β -lactamases chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées du service d'urologie de l'hôpital de Skikda, Algérie. *African Journal of Microbiology Research*, 12, 38–45.
- Meradji, S., Barguigua, A., Bentakouk, M.-C., Nayme, K., Zerouali, K., Mazouz, D., Chettibi, H., &Timinouni, M. (2016). Épidémiologie et virulence de *Pseudomonas aeruginosa* producteur de métallo- β -lactamase VIM-4 chez des patients brûlés en Algérie orientale. (*Elsevier*), 1–13.
- Mesaros, N., Nordmann, P., &Plésiat, P. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* : résistances et options thérapeutiques au tournant du nouveau millénaire. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(6), 560–578.
- Meskine, A., &Benabdelkader, L. (2016). *Étude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques de souches isolées du milieu hospitalier* [Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine].
- Motta, S. S., Cluzel, P., & Aldana, M. (2015). Résistance adaptative chez les bactéries requiert l'héritage épigénétique, le bruit génétique et le coût des pompes à efflux. *PLoS One*, 10, e0118464.
- Mouiche, M. M., Moffo, F., Akoachere, J. F. T. K., Mapiefou, N. P., Mbah, C. K., Tobin-West, C., &Wouembe, P. M. (2019). Résistance antimicrobienne dans une perspective « One Health » au Cameroun : revue systématique et méta-analyse. *BMC Public Health*, 19, 1135.

N

- Nyaledome, A. I. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V [Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat].

O

- Obritsch, M. D., Fish, D. N., MacLaren, R., & Jung, R. (2004). Surveillance nationale de la résistance antimicrobienne chez les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* en soins intensifs (1993–2002). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 4606–4610.
- Oloke, J. K. (2000). Profil d'activité des agents antibactériens naturels et synthétiques sur des isolats hospitaliers. *Microbios*, 102, 175–181.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). (2024). *Antimicrobial resistance*. Consultée le 25 mai 2025, sur : <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/antimicrobial-resistance>
- Ozer, E., et al. (2021). Vue interne d'un biofilm : suivi par biopistage des flagelles de *Pseudomonas aeruginosa*. *Science Advances*, 7(15), eabe4512.

P

- Pancu, D. F., Scurtu, A., Macasoi, I. G., Marti, D., Mioc, M., Soica, C., Coricovac, D., Horhat, D., Poenaru, M., & Dehelean, C. (2021). Antibiotiques : thérapies conventionnelles et composés naturels à activité antibactérienne – une évaluation pharmacotoxique. *Antibiotics (Basel)*, 10(4), 401.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et stratégies thérapeutiques alternatives. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192.
- Park, W. S., et al. (2022). Le benzyl isothiocyanate atténue l'activation de l'inflammasome chez les cellules THP-1 stimulées par le LPS de *Pseudomonas aeruginosa* et exerce une régulation via la voie MAPKs/NF-κB. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 1–10.

R

- Raji, A. I. (2006). Qualité bactériologique de la viande séchée tranchée (Kilishi) vendue dans la métropole d'Ilorin. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 10(1), 93–96.
- Rouger, A., Moriceau, N., Prévost, H., Remenant, B., & Zagorec, M. (2018). Diversité des communautés bactériennes sur découpes de poulet conditionnées sous atmosphère modifiée. *Food Microbiology*, 70, 7–16.

- Ryan, K. J., & Ray, C. G. (Éds.). (2004). Sherris Microbiologie Médicale (4e éd.). McGraw-Hill.

S

- Sabnis, A., et al. (2021). La colistine tue les bactéries en ciblant le lipopolysaccharide dans la membrane cytoplasmique. *Elife*, 10, e65836.
- Sadikalay, S. (2018). Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement en Guadeloupe [Thèse de doctorat, Université des Antilles].
- Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W., & Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* présente plusieurs phénotypes au cours du développement en biofilm. *Journal of Bacteriology*, 184(4), 1140–1154.
- Shorr, A. F. (2009). Impact de la résistance des bactéries à Gram négatif sur les résultats en soins intensifs : une revue. *Critical Care Medicine*, 37, 1463–1469.
- Shree, P., Singh, C. K., Kaur Sodhi, K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023). Biofilms: compréhension de la structure et contribution à la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Medical Microecology*, 16, 100084.
- Singleton, P. (2005). *Bactériologie pour la médecine, les biologies et les biotechnologies* (2e éd.). Paris : Dunod.
- Solbi, S. (2013). *Effet du repiquage de Pseudomonas aeruginosa sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques* [Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat].
- Stellato, G., La Stora, A., De Filippis, F., Borriello, G., Villani, F., & Ercolini, D. (2016). Chevauchement des microbiotes d'altération entre la viande et l'environnement de transformation dans les circuits de distribution à petite et grande échelle. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 4045–4054. <https://doi.org/10.1128/AEM.00551-16>
- Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrenner, P., Hickey, M. J., et al. (2000). Séquençage complet du génome de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, un pathogène opportuniste. *Nature*, 406(6799), 959–964.

T

- Tsafraïidou, P., Sameli, N., Kakouri, A., Bosnea, L., & Samelis, J. (2023). Évaluation de la microbiote de détérioration et du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans la viande de poulet hachée fermière stockée à 4 °C sous vide : comparaison avec la communauté d'altération d'un produit en emballage sous atmosphère modifiée. *Applied Microbiology*, 3(4), 1277–1301.

U

- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., & Dhama, K. (2021). Résistance aux antibiotiques chez les microbes : historique, mécanismes, stratégies thérapeutiques et perspectives futures. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1750–1766.

V

- Vasil, M. L. (1986). *Pseudomonas aeruginosa* : Biologie, mécanismes de virulence, épidémiologie. *Journal of Pediatrics*, 108(5), 800–805.
- Vidaillac, C., & Chotirmall, S. H. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* dans la dilatation des bronches : infection, inflammation et thérapies. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 15(6), 649–662.

W

- Wilson, D. N. (2014). Antibiotiques ciblant le ribosome et mécanismes de résistance bactérienne. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 35–48.

X

- Xu, Z., Xie, J., Soteyome, T., Peters, B. M., Shirtliff, M. E., Liu, J., & Harro, J. M. (2019). Interaction polymicrobienne et biofilms entre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* : un problème sous-estimé dans la sécurité alimentaire. *Current Opinion in Food Science*, 26, 57–64.

Y

- Yagoub, S. O. (2009). Isolement d'Enterobacteriaceae et de *Pseudomonas spp.* dans le poisson cru vendu au Soudan (Khartoum). *Journal of Bacteriology Research*, 1, 85–88.

Z

- Zhou, G., Shi, Q. S., Huang, X., Mo, Z., & Xiao, B. X. (2015). Les trois lignes de défense bactérienne contre les agents antimicrobiens. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 21711–21733.

ANNEXES

Annexe 1

Matériel utilisé

- ✓ Matériel de prélèvement
- Glacière
- Sacs de prélèvement



Figure 1: Sac de prélèvement (Photo personnelle)

- ✓ Matériel d'analyses microbiologiques : le matériel et les produits utilisés durant cette étude sont mentionnés dans ce tableau

Tableau 1 : Matériel et produits d'analyses microbiologiques

Instruments		Produits	
Appareils et instruments	Verrerie	Milieus	Les réactifs
- Bain-marie	- Tubes en vis	-Gélose au cétrimide	-TDA
-Agitateur chauffant	- Bécher	-Milieu TSI	-Violet de gentiane
-Agitateur Vortex	- Erlenmeyer	-Milieu citrate de Simmon	- Lugol
-Etuve	- Flacon	- Gélose nutritive	- Alcool
-Autoclave	- Pipette graduée	-Bouillon Tryptone- Sel- Eau	-Ethanol
-Balance	- Pipette pasteur	-Bouillon Nitraté	-Fuchsine
-Microscope optique	- Boites de Petri	-Bouillon acétamide	-Réactifs nitrate 1 et 2
-Bec Bunsen		-Milieu King B	-Poudre de zinc
-Chambre UV		-Milieu mannitol-mobilité	-Réactif de Nessler
-Micropipette		-Bouillons Moeller (ADH)	
-Anse de platine			

- ✓ Matériel et produits spécifique à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques
 - Milieu Mueller Hinton
 - SpectrophotomètreUV- visible (figure 2)
 - Disques d'antibiotiques (figure 3)



Figure 2:Spectrophotomètre (Photo personnelle)



Figure 3 : Les disques d'antibiotiques(Photo personnelle)

Annexe 2

Préparation des milieux de culture

Principe général de préparation : Pour la plupart des milieux de culture secs commerciaux, la préparation suit ces étapes :

Dissolution : Peser la quantité spécifiée de poudre et la dissoudre dans 1 litre d'eau distillée.

Chauffage : Chauffer doucement le mélange (avec agitation si nécessaire) jusqu'à dissolution complète de tous les composants, y compris l'agar si le milieu est solide.

Tableau 3: Quantités recommandées pour la préparation de certains milieux de culture

Nom de milieu	Quantité pour 1 litre
Milieu TSI	65g
Milieu citrate de simmons	24,2g
Milieu GN	32,2g
Milieu Miuller Hinton	38g
Bouillon tryptophane	10g
Bouillon nitraté	8 à 10g
Milieu King A	23g
Milieu King B	35g



Figure 4: Préparation des milieux de culture