

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE 2004

N° 80

**RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES
DE SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES
D'HEMOCULTURE AU CHU**

A. LE DANTEC

THESE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLÔME D'ETAT)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le 29 juillet 2004

PAR

Mlle Fatoumata TOURE

Née le 17 Juin 1973 à Dakar (SENEGAL)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT :	M.	Serigne Abdou	BA	: Professeur
MEMBRES :	M.	Cheikh Saad-bouh	BOYE	: Professeur
	M.	Papa Amadou	DIOP	: Professeur
	M.	Mamadou Keith	BADIANE	: Maître de Conférences Agrégé

DIRECTEUR DE THESE : M. Cheikh Saad-bouh BOYE : Professeur

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE



PERSONNEL ADMINISTRATIF DE LA FACULTE

DOYEN

M. Doudou

THIAM

PREMIER ASSESSEUR

M. Cheikh Saad Bouh

BOYE

DEUXIEME ASSESSEUR

M. Malick

SEMBENE

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS M. Assane

CISSE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2003–2004

I. MEDECINE

PROFESSEURS TITULAIRES

M. José Marie		AFOUTOU	Histologie-Embryologie
M. Mamadou		BA	Pédiatrie
M. Mamadou		BA	Urologie
M Serigne Abdou		BA	Cardiologie
M Fallou		CISSE	Physiologie
M Moussa Fafa		CISSE	Bactériologie-Virologie
M. Abdarahmane		DIA	Anatomie-Chirurgie Générale
M. Baye Assane		DIAGNE	Urologie
M. Lamine		DIAKHATE	Hématologie
M Amadou Gallo		DIOP	Neurologie
M. Bernard Marcel		DIOP	Maladies Infectieuses
* M EL Hadj Malick		DIOP	O-R-L
MmeThérèse MOREIRA		DIOP	Médecine Interne I
M. Raymond		DIOUF	O.R.L
M Sémou		DIOUF	Cardiologie
M Souvasin		DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
M. Babacar		FALL	Chirurgie Générale
Mme Sylvie	SECK	GASSAMA	Biophysique
M. Oumar		GAYE	Parasitologie
M. Lamine		GUEYE	Physiologie
M. Momar		GUEYE	Psychiatrie
*M. Serigne Maguèye		GUEYE	Urologie
M. Abdoul Almamy		HANE	Pneumophtisiologie
M. Abdoul		KANE	Cardiologie
M. Nicolas		KUAKUVI	Pédiatrie
M. Victorino		MENDES	Anatomie Pathologique
M. Jean Charles		MOREAU	Gynécologie Obstétrique
M. Bassirou		NDIAYE	Dermatologie
M. Ibrahima Pierre		NDIAYE	Neurologie
*M .Madoune Robert		NDIAYE	Ophtalmologie
M. Mouhamadou		NDIAYE	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
M. Mouhamadou Mansour		NDIAYE	Neurologie
Mme Mbayang NIANG		NDIAYE	Physiologie
M Pape Amadou		NDIAYE	Ophtalmologie
*M Mamadou		NDOYE	Chirurgie Infantile
M. Youssoupha		SAKHO	Neurochirurgie
Mme Bineta	KA	SALL	Anesthésie-Réanimation
M. Mohamadou Guélaye		SALL	Pédiatrie
M. Niama	DIOP	SALL	Biochimie Médicale

* Associé

§ Détachement

M Abibou	SAMB	Bactériologie-virologie
M Mamadou	SARR	Pédiatrie
§Mme Awa Marie COLL	SECK	Maladies Infectieuses
M Cheickna	SYLLA	Urologie
M Seydina Issa Laye	SEYE	Orthopédie-Traumatologie
M Abdourahmane	SOW	Maladies Infectieuses
M Housseyn Dembel	SOW	Pédiatrie
M Mamadou Lamine	SOW	Médecine Légale
M Moussa Lamine	SOW	Anatomie-Chirurgie Générale
M Pape Salif	SOW	Maladies Infectieuses
M Doudou	THIAM	Hématologie
*M Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie Générale
M Meïssa	TOURE	Biochimie Médicale
M Pape	TOURE	Cancérologie
M Alassane	WADE	Ophtalmologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. Moussa	BADIANE	Radiologie
M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neurochirurgie
M. Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie Obstétrique
M. Cheikh Ahmed Tidiane	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
M. Jean Marie	DANGOU	Anatomie et Cytologie Patholog.
*M. Ibrahima	DIAGNE	Pédiatrie
*M. Massar	DIAGNE	Neurologie
M. Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
+M. Issakha	DIALLO	Santé Publique
*M. Mame Thierno	DIENG	Dermatologie
M. Yémou	DIENG	Parasitologie
M. El Hadj Ibrahima	DIOF	Orthopédie-Traumatologie
M. Ibrahima Bara	DIOF	Cardiologie
M. Saïd Norou	DIOF	Médecine Interne II
M. Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Boucar	DIOUF	Néphrologie
M. Mamadou Lamine	DIOUF	Gastro-Entérologie
M. Ibrahima	FALL	Chirurgie Pédiatrique
Mme.Mame Awa	FAYE	Maladies Infectieuses
M. Oumar	FAYE	Parasitologie
Mme Gisèle	WOTO GAYE	Anatomie Pathologique
*M. Mamadou Mourtalla	KA	Médecine Interne
M. Assane	KANE	Dermatologie
M. Mouhamadou	MBENGUE	Gastro-Entérologie
M. Claude	MOREIRA	Pédiatrie
M. Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie-Orthopédie-Traumatologie
M. Issa	NDIAYE	O.R.L
M. Ousmane	NDIAYE	Pédiatrie
M. Alain Khassim	NDOYE	Urologie
M. El Hadji	NIANG	Radiologie
M. Abdoulaye	SAMB	Physiologie
M. Moustapha	SARR	Cardiologie
M. Birama	SECK	Pédopsychiatrie

+ disponibilité

* Associé

M. EL Hassane	SIDIBE	Endocrinologie-Métabolisme
*M. Masserigne	SOUMARE	Nutrition-Diabétologie
M. Ahmad Iyane	SOW	Maladies Infectieuses
Mme.Haby SIGNATE	SY	Bactériologie-Virologie
M. Mouhamadou Habib	SY	Pédiatrie
M. Omar	SYLLA	Orthopédie-Traumatologie
M. Alé	THIAM	Psychiatrie
		Neurologie

MAITRES-ASSISTANTS

Mme Aïssata	LY	BA	Radiologie
M. EL Hadj Amadou		BA	Ophtalmologie
Mme Mariama GUEYE		BA	Gynécologie-Obstétrique
M. Momar Codé		BA	Neurochirurgie
M. Moussa		BA	Psychiatrie
Mme. Sokhna		BA / DIOP	Radiologie
M. Boubacar		CAMARA	Pédiatrie
M. El Hadj Souleymane		CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
Mme. Mariama Safiétou KA		CISSE	Médecine Interne
M. André Vauvert		DANSOKHO	Orthopédie-Traumatologie
M. Ahmadou		DEM	Cancérologie
Mme Anta	TAL	DIA	Médecine Préventive
M Bay Karim		DIALLO	O.R.L
M. Saïdou		DIALLO	Rhumatologie
M. Alassane		DIATTA	Biochimie Médicale
M. Mamadou		DIOP	Anatomie-Cancérologie
M. Saliou		DIOP	Hématologie
Mme. Elisabeth		DIOUF	Anesthésie-Réanimation
Mme Fatou	SENE	DIOUF	Neurologie
M. Saliou		DIOUF	Pédiatrie
Mme Mame Coumba GAYE		FALL	Médecine Légale
M. Pape Ahmed		FALL	Urologie
M. Oumar		FAYE	Histologie-Embryologie
M. EL Hadj Fary		KA	Clinique Médicale/Néphrologie
M. Oumar		KANE	Anesthésie-Réanimation
*M. Abdoul Aziz		KASSE	Cancérologie
Mme Ndèye Maïmouna NDOUR		MBAYE	Médecine Interne
M. Ismaïla		MBAYE	Médecine du Travail
M. Mamadou		MBODJ	Biophysique
M. Philipe Marc		MOREIRA	Gynécologie
+Mme Coura	SEYE	NDIAYE	Ophtalmologie
*M. Cheikh Tidiane		NDOUR	Maladies Infectieuses
M Ndaraw		NDOYE	Neurochirurgie
M. Oumar		NDOYE	Biophysique
M. Abdou		NIANG	Néphrologie
Mme Suzanne Oumou		NIANG	Dermatologie
M. Abdoulaye		POUYE	Médecine Interne

Mme Paule Aïda	NDOYE	ROTH	Ophtalmologie
Mme Anne Aurere		SANKALE	Chirurgie Générale

* Associé
+ Disponibilité

Mme Anna	SARR	Médecine Interne
M Doudou	SARR	Psychiatrie
M. Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
M. Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
M. Gora	SECK	Physiologie
M. Moussa	SEYDI	Maladies Infectieuses
Mme Aïda	SYLLA	Psychiatrie
M. Abdourahmane	TALL	O.R.L
M. Mamadou Habib	THIAM	Psychiatrie
M. Silly	TOURE	Stomatologie
Mme Awa Oumar	TOURE / FALL	Hématologie
Mme Hassanatou	TOURE / SOW	Biophysique
Mme Aïssatou Magatte	WANE	Ophtalmologie
M. Issa	WONE	Médecine Préventive

ASSISTANTS

Mlle Agaïcha Tamolette	AIFIDJA	Radiologie
M. Abdoulaye	BA	Physiologie
M. Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
M. Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
Melle Fatou	DIALLO	Biochimie Médicale
M. Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
M. EL Hadj Alioune	LO	Anatomie Organogénèse
M. Papa	NDIAYE	Médecine Préventive
M. Jean M arc Ndiaga	NDOYE	Anatomie
M. Kamadore	TOURE	Médecine Préventive

CHEFS DE CLINIQUE-ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

M. Mamadou Diarrah	BEYE	Anesthésie-Réanimation
M Mamadou Lamine	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
M. Abdoulaye	DANFA	Psychiatrie
&Mme Elisabeth FELLER	DANSOKHO	Maladies Infectieuses
Melle Ndèye Méry	DIA	Maladies Infectieuses
Mme Ramatoulaye	DIAGNE	Pédiatrie
M. Oumar	DIARRA	Chirurgie Générale
M. Babacar	DIAO	Urologie
M. Maboury	DIAO	Cardiologie
M. Madieng	DIENG	Chirurgie Générale
* M. Mamadou Moustapha	DIENG	Cancérologie
M. Charles Bertin	DIEME	Orthopédie-traumatologie
M. Rudolph	DIOP	Stomatologie
M. Serigne Modou KANE	GUEYE	Gynécologie-Obstétrique
M. Ibrahima	KONATE	Chirurgie Générale

M.	Abdoulaye	LEYE	Clinique Médicale
Mme	Aminata DIACK	MBAYE	Pédiatrie
M.	Amadou Koura	NDAO	Neurologie

* Associé
& Détachement

Mme	Marième	NDIAYE	Psychiatrie
Mme	Ndèye Nguénare DIOP	NIANG	Dermatologie
M.	Gabriel	NGOM	Chirurgie Générale
Mme	Fatou Samba D. NDIAYE	SENE	Médecine Interne
M.	Idrissa	SENE	O.R.L
Mme	Nafissatou Oumar	TOURE	Pneumologie

ATTACHES CHEFS DE CLINIQUE

M.	Mamadou	COUME	Médecine Interne I
Melle	Yacine	DIA	Pneumologie
M.	Ansoumana	DIATTA	Pneumologie

ATTACHES-ASSISTANTS

Mme.	Nafissatou	NDIAYE / BA	Anatomie Pathologique
M.	Babacar	FAYE	Parasitologie
Melle	Roughyatou	KA	Bactériologie
*M.	Ibrahima	SECK	Médecine Préventive
M.	Mohamed M.	SOUMAH	Médecine Légale

*Associé

II. PHARMACIE

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	Doudou	BA	Chimie Analytique et Toxicologie
M.	Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie et Botanique
M.	Cheikh Saad Bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
Mme	Aïssatou Gaye	DIALLO	Bactériologie-Virologie
+ M.	Alioune	DIEYE	Immunologie
M.	Pape Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique
* M.	Babacar	FAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	Issa	LO	Pharmacie Galénique
* M.	Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie
* M.	Omar	NDIR	Parasitologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique
M.	Mounirou	CISS	Toxicologie
*M.	Aynina	CISSE	Biochimie Pharmaceutique
M.	Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
Mme Aminata	SALL	DIALLO	Physiologie Pharmaceutique

M.	Yérin Mbagnick DIOP	Chimie Analytique
M.	Amadou DIOUF	Toxicologie

MAITRES-ASSISTANTS

Melle Issa Bella	BAH	Parasitologie
M. Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
*M. Amadou Mectar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Tandakha NDIAYE	DIEYE	Immunologie
M. Modou	LO	Botanique
Mme. Philomène	LOPEZ / SALL	Biochimie Pharmaceutique
M. Bara	NDIAYE	Chimie Analytique
Mme. Maguette D.SYLLA	NIANG	Biochimie Pharmaceutique
Mme Rita B.	NONGONIERMA	Pharmacognosie
M. Matar	SECK	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique

ASSISTANTS

M. William	DIATTA	Botanique
MelleThérèse	DIENG	Parasitologie
M. Ahmédou Bamba K.	FALL	Pharmacie Galénique
M. Mor	GUEYE	Physiologie Pharmaceutique
M. Pape Madieye	GUEYE	Biochimie Pharmaceutique

* Associé
+ disponibilité

M. Mamadou	FALL	Toxicologie
Mme Aïssatou	GUEYE / NDIAYE	Bactériologie-Virologie
M. Modou Oumy	KANE	Physiologie Pharmaceutique
M. Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
*M. Mamadou	NDIAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Mamadou	SARR	Physiologie Pharmaceutique
M. Guata yoro	SY	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Alassane	WELE	Chimie Physique

ATTACHES

M. Alioune Dior	FALL	Pharmacognosie
Mme Oumou BARRY	KANE	Toxicologie
M. Gora	MBAYE	Physique Pharmaceutique
M. Sarra	NGOM	Pharmacie Galénique

* Associé

III. CHIRURGIE DENTAIRE

PROFESSEURS TITULAIRES

M. Ibrahima &Mme Ndioro	BA NDIAYE	Pédodontie-Prévention Odontologie Préventive et Sociale
----------------------------	--------------	--

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

*M. Boubacar	DIALLO	Chirurgie Buccale
M. Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
Mme Charlotte	FATY NDIAYE	Chirurgie Buccale
M. Malick	SEMBENE	Parodontologie

MAITRES ASSISTANTS

M. Daouda	CISSE	Odontologie Prév. et Sociale
Mme Khady	DIOP / BA	Orthopédie Dento-Faciale
Mme Soukèye	DIA / TINE	Chirurgie Buccale
*M. Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
Mme Adam Marie A.SECK	DIALLO	Parodontologie
Mme Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M. Malick	FAYE	Pédodontie
Melle Fatou	GAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Abdoul Wahab	KANE	Odontologie Cons. Endodontie
*M. Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire
M. Abdoul Aziz	YAM	Pédodontie-Prévention

ASSISTANTS

M. Abdou	BA	Chirurgie Buccale
Mme Aïssatou	TAMBA BA	Pédodontie-Prévention
M. Henri Michel	BENOIST	Parodontologie
*M. Lambane	DIENG	Prothèse Dentaire
Mme Farimata youga	DIENG / SARR	Matières Fondamentales
M. Babacar	FAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Daouda	FAYE	Odontologie Prév. et Sociale
M. Cheikh Mouhamadou M.	LO	Odontologie Prév. Sociale
*M. Malick	MBAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
*M. Pape Ibrahima	NGOM	Orthopédie Dento Faciale
M. Cheikh	NDIAYE	Prothèse Dentaire
M. Mouhamed	SARR	Odontologie Cons. Endodontie
M. Babacar	TOURE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire

* Associé

ATTACHES

M. Abdoulaye
M. Alpha
M. Oumar Harouna
M. El Hadj Babacar
Mlle Fatou

DIOUF
KOUNTA
SALL
MBODJ
LEYE

Parodontologie
Chirurgie Buccale
Matières Fondamentales
Prothèse Dentaire
O.C.E.

IN MEMORIUM

A mes grand-parents « In memorium »

Que vos âmes reposent en paix au Paradis.

A mon père

Aucune expression ne pourrait être assez large pour traduire notre grand Amour, notre admiration et notre profond respect pour toi, ni assez forte pour exprimer le grand vide que tu as laissé dans nos cœurs.

Nous te seront éternellement reconnaissants d'avoir tout été pour nous, de nous avoir appris à reconnaître le vrai sens de la vie et à aimer la vertu et le droit chemin.

Reposes en paix et qu'ALLAH Le Tout Puissant t'accordes son saint Paradis et répandes sur toi tous les bienfaits qu'il réserve aux HAFFIZ AL QUR'AN.

A ma mère

La meilleure des mamans, exemple de bonté et de générosité.

Avec courage et dignité, tu as subi les souffrances de ce monde, espérant édifier un avenir meilleur pour tes enfants.

Ce jour solennel voit le couronnement des efforts inlassables toujours consentis pour nous.

Comment te remercier chère maman

Mon amour et mon respect pour toi ont beau être grans, ils ne pourront jamais égaler tes peines et tes tourments.

Je t'exprime à travers ce travail, mon infinie tendresse.

Que le bon Dieu te laisse encore longtemps devant nous !

A mes oncles Abou, Demba, Mamadou, Bouba

Auprès de vous j'ai trouvé conseils et réconforts.

A mes tantes

J'apprécie beaucoup l'estime et l'amour que vous me portez.

Puisse ce travail vous témoigner toute mon affection.

A mes frères et sœurs Ndeye Sokhna, Baba, Payo, El Hadj

Vous faites partie de ce que j'aime le plus au monde.

J'espère avoir atteint le seuil de vos espérances.

Puisse notre entente demeurer éternelle et que ce travail vous incite à mieux persévérer.

A mon frère et cousin Amara Touré

Ton soutien et ton aide ont été inestimables.

Merci pour tes conseils.

A mes cousines

Vous êtes plus que des sœurs, je dirai même des complices.

Que ce travail soit l'expression de la profonde affection que je vous porte.

A mes cousins

Je ne saurais vous énumérer de peur d'en oublier mais je sais que chacun de vous saura s'y reconnaître.

Toute mon affection !

A mes neveux et nièces

Je vous encourage tous. Vous êtes adorables.

Au Docteur Amar LO

Merci Docteur pour ton soutien et tes conseils.

Tu es d'une gentillesse exemplaire.

A tout le personnel de la Pharmacie NDINGALA

A mon amie d'enfance Codou DIOUF

Nous avons parcouru ensemble le chemin de la vie et de l'école. Ce travail est le tien.

Puisses notre amitié demeurer éternelle.

A mes amies et compagnes : Rama, Saty, Iphi, Dieynaba, Dibor

Auprès de vous, j'ai passé les plus belles années de ma vie. Ce travail vous est dédié en signe d'affection ainsi qu'à vos parents.

Que Dieu fasse que nous soyons toujours unies.

A mes co-thésards

Ibrahima SAGNA, Hafsatou TRAORE, Maïmouna MANGANE, Kène SECK, Rokhaya NDOYE, Tening SARR, Rose SECK, Mah Koro NDOUR.

A mes camarades de Promotion

En souvenir de nos efforts communs.

A tous ceux qui me sont chers, sachez que :

L'amitié a sa puissance et son confort qui nous rappellent qu'un ami est un don de Dieu.

Merci.

REMERCIEMENTS

A tout le personnel du Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'HALD

Particulièrement au Docteur Yenaba, Assane, Mme Thiam, Racky

Merci pour vos contributions à la réalisations de ce travail.

A tout le personnel de la Pharmacie centrale

A tout le personnel du service de cardiologie de l'H.A.L.D.

A notre Maître et Président de Jury

Monsieur le Professeur Serigne Abdou BA

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider le jury de notre thèse.
Votre courtoisie, votre modestie et votre rigueur scientifique forcent l'admiration de tous
ceux qui vous côtoient.
Veillez trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre fidélité à vos
idéaux.

À notre Maître et Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur Cheikh Saad-Bouh BOYE

Vous nous avez inspiré dans ce travail et vous nous avez guidé dans sa réalisation
malgré vos nombreuses occupations.
Votre simplicité, votre rigueur scientifique et votre goût du travail bien fait nous ont tant
inspiré.
Soyez assuré, cher Maître de notre profonde gratitude. Merci pour tout.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Pape Amadou DIOP

Plus qu'un honneur, c'est une joie pour nous de vous compter parmi nos juges.

Votre abord facile, votre disponibilité et votre simplicité font de vous un Maître aimé et nous serviront toujours d'exemple.

Veillez trouver ici l'expression de nos remerciements les plus distingués pour vos conseils et de notre sincère fidélité.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Mamadou Keith BADIANE

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail nous réjouit.

Pédagogue averti et éveilleur de conscience, vous avez grandement contribué à notre formation.

Vous resterez pour vos élèves un exemple par la clarté et la richesse de votre enseignement, par votre dynamisme et votre simplicité.

Veillez recevoir cher Maître, nos sincères remerciements.

Par délibération, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

ABREVIATIONS

AMC	:	Amoxicilline / acide clavulanique
ATCC	:	American type culture collection
BLSM	:	Bêta-lactamases à spectre élargi
BORSA	:	Bordeline <i>Staphylococcus aureus</i>
CHN	:	Céphalosporines à haut niveau
CMI₅₀	:	Concentration minimale qui inhibe 50% des souches
CMI₉₀	:	Concentration minimale qui inhibe 90% des souches
GSC	:	Gélose au sang cuit
I	:	Intermédiaire
IBL	:	Inhibiteur de bêta-lactamases
MODSA	:	Modified <i>Staphylococcus aureus</i>
NCCLS	:	National committee for clinical laboratory standards
PRP	:	Pneumocoques résistants à la pénicilline
PSP	:	Pneumocoques sensibles à la pénicilline
PHN	:	Pénicillinase à haut niveau
PNB	:	Pénicillinase à bas niveau
R	:	Résistant
S	:	Sensible
SPS	:	Polyanéthol sulfonate de sodium
TRI	:	TEM résistante aux inhibiteur

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
GENERALITES.....	3
I/ DEFINITION DES BETA-LACTAMINES.....	3
II/ CLASSIFICATION.....	3
II-1 LES PENICILLINES	4
II-2 LES CEPHALOSPORINES.....	5
II-3 LES MONOBACTAMES.....	6
III/ LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	6
III-1 LES PENICILLINES	6
III-2 -LES CEPHALOSPORINES.....	6
III-3 LES MONOBACTAMES	7
IV/ LES PROPRIETES PHARMOCOCINETIQUES.....	7
IV-1 PENICILLINES NATURELLES.....	7
IV-2 PENICILLINES DU GROUPE A	8
IV-3 PENICILLINES DU GROUPE M.....	8
IV-4 CARBOXYPENICILLINES	8
IV-5 UREIDOPENICILLINES	9
IV-6 CARBAPENEMES	9
IV-7 CEPHALOSPORINES	10
V/ MECANISME D'ACTION	10
V-1 PENETRATION DES BETA-LACTAMINES DANS LA BACTERIE.....	10
V-2 COMPORTEMENT VIS A VIS DES BETA-LACTAMES PERIPLASMIQUES	11
V-3 INTERACTION AVEC LES PLP.....	11
V-4 LYSE BACTERIENNE : EFFET BACTERICIDE	12
VI/ MECANISME DE RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES	12
VI-1 NOTION DE RESISTANCE	12
VI-2 TYPE DE RESISTANCE	13
VI-2-1 Résistance naturelle	13
VI-2-2 Résistance acquise	14
VI-3 SUPPORT DE RESISTANCE	14
VI-3-1 Résistance chromosomique par mutation	15
VI-3-2 Résistance par acquisition de gène.....	16
VI-3-3 Résistance par dérégulation du gène	16
VI-4 MECANISME DE RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES	17
VI-4-1 résistance par production d'enzyme	17
VI-4-2 Résistance non enzymatique.....	22
VI-4-3 Phénotype de résistance des cocci à Gram positif aux bêta-lactamines..	23
VI-4-3-1 Résistance des staphylocoques aux bêta-lactamines.....	23
VI-4-3-2 Phénotypes de résistance de S. pneumoniae aux bêta-lactamines	27
VI-4-4 Phénotypes de résistance des bacilles à gram négatif.....	28
VI-4-4-1 Phénotypes de résistance des entérobactéries aux Bêta-lactamines	28
VI-4-4-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32

VI-4-4-3 <i>Haemophilus influenzae</i>	33
VII/ METHODE DE DETERMINATION IN VITRO DES CMI.....	34
VII-1 DEFINITION DE LA CMI	34
VII-2 METHODE PAR DILUTION	35
VII-2-1 Méthode par dilution en milieu liquide	35
VII-2-2 méthode par dilution en milieu solide.....	35
VII-3 METHODE PAR DIFFUSION (ANTIBIOGRAMME : METHODE DES DISQUES).....	36
VII-4 MICROMETHODE DETUDEIN « VITRO » DE LA SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES	37
VII-5 LE E-TEST (EPSILLOMETER TES).....	37
VII-6 LECTURE INTERPRETATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME	38
VIII/ DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DES BACTERIEMIES ET DES ETATS SEPTICEMIQUES.....	39
VIII-1 PRELEVEMENT	40
VIII-1-1 Conditions préalables au prélèvements.....	40
VIII-1-2 Composition des milieux de culturelle	40
VIII-1-3 Conditionnement des milieux de culture	41
VIII-1-4 Technique de prélèvement.....	42
VIII-2 EXAMEN BACTERIOLOGIQUE	42
VIII-2-1 Examen macroscopique	42
VIII-2-2 Repiquage, isolement et identification	43
VIII-2-3 Interprétation des hémoculture	43
VIII-2-3-1 Cas d'une hémoculture monomicrobienne	43
VIII-2-3-2 Cas d'une hémoculture polymicrobienne.....	44
TRAVAIL PERSONNEL	46
I/ MATERIEL ET METHODE.....	46
I-1 MATERIEL.....	46
I-1-1 Cadre d'étude	46
I-1-2 Souches bactériennes	46
I-1-3 Souches de référence	46
I-1-4 Antibiotiques testés	47
I-1-5 Matériel pour isolement et identification	47
I-1-6 Matériel pour l'étude la sensibilité	48
I-1-7 Matériel pour conservation.....	49
I-1-8 Matériel pour exploitation des résultats.....	49
II/ METHODE.....	50
II-1 ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES.....	50
II-1-1 Isolement	50
II-1-2 Identification	50
II-2 METHODE D'ETUDE DE LA SENSIBILITE	50
II-2-1 Méthode de détermination de la sensibilité par E-test.....	51
II-2-2 Méthode de détermination de la sensibilité par antibiogramme standard	53
III/ RESULTATS ET COMMENTAIRE	55
.....	
III-1 REPARTITION DES SOUCHES BACTERIENNES.....	55
III-2 EFFECTIF DES SOUCHES TESTEES PAR E-TEST.....	55
III-3 PROFIL DE SENSIBILITE DES COCCI A GRAM POSITIF AUX BETA-LACTAMINES	56
III-3-1 <i>Staphylococcus aureus</i>	57

III-3-2 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	57
III-3-3 <i>Streptococcus pyogenes</i>	58
III-4 PROFIL DE SENSIBILITE DES BACILLES A GRAM NEGATIF.....	59
III-4-1 Les entérobactéries	59
III-4-1-1 <i>Escherichia coli</i>	59
III-4-1-2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	60
III-4-1-3 <i>Proteus mirabilis</i>	60
III-4 -2 Bacilles à gram négatif non fermentaires : <i>P. aeruginosa</i>	61
III-4 -3 Bacilles à gram négatif fermentaires : <i>H. influenzae</i>	62
DISCUSSION	63
I/ SENSIBILITE DES COCCI A GRAM POSITIF.....	63
I-1S. <i>AUREUS</i>	63
I-2 <i>S. PNEUMONIAE</i>	64
I-3 <i>S. PYOGENES</i>	65
II/ SENSIBILITE DES ENTEROBACTERIES	66
II-1 <i>E. COLI</i>	66
II-2 <i>K. PNEUMONIAE</i>	66
I I-3 <i>P. MIRABILIS</i>	67
III/ SENSIBILITE DE <i>P. AERUGINOSA</i>	67
IV/ SENSIBILITE D' <i>H. INFLUENZAE</i>	68
CONCLUSION	70
RECOMMANDATIONS	73
BIBLIOGRAPHIE	75

INTRODUCTION

Pendant longtemps, les antibiotiques en particulier les bêta-lactamines ont été largement utilisés en milieu hospitalier dans le traitement des infections bactériennes notamment les septicémies.

En effet, depuis leur découverte avec comme chef de file la pénicilline elles ont toujours fait preuve d'efficacité en thérapeutique anti-infectieuse.

Cependant, l'apparition de souches résistantes aux bêta-lactamines et l'étranglement de leur spectre d'activité deviennent de plus en plus inquiétantes et orientent notre étude à la recherche de produits plus performants.

On aboutit alors à la mise au point de nombreux dérivés d'hémisynthèse avec comme souci permanent d'obtenir des dérivés plus performants parce que plus efficaces et plus stables en présence de sécrétions inactivantes de certains germes bactériens (staphylocoques dorés, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Ces sécrétions inactivantes ou bêta-lactamases entraînent l'ouverture du cycle bêta-lactame qui est le support de l'activité antibactérienne des bêta-lactamines.

La nécessité de l'activité bactéricide dans le traitement d'infections sévères comme les septicémies, les méningites va orienter notre étude sur la détermination de la CMI et CMB.

Nous avons voulu, à travers cette étude menée à l'hôpital A Le Dantec de Dakar (HALD), apporter le maximum d'aide possible aux cliniciens, pour le diagnostic des infections du sang en étudiant la sensibilité des germes aux bêta-lactamines.

Cela servira de point de départ à d'autres études comparatives ultérieures afin d'avoir une vision globale des septicémies dans cet hôpital. Et nous essayerons, à partir de la littérature et de nos résultats, de tirer des conclusions qui seront adaptées aux conduites à tenir par rapport à ces phénomènes.

PREMIERE PARTIE

I/ DEFINITION

Les bêta-lactamines constituent la plus vaste famille d'antibiotique caractérisée par une croissance exceptionnelle. Cependant à côté des produits naturels obtenus par fermentation de microorganisme des genres *Pénicillium* (Pénicillines) et *cephalosporinium acremonium* (céphalosporines), de nombreux dérivés d'hémisynthèse ont été mis au point.

Ce sont des bactéricides ayant en commun un cycle bêta-lactame qui est le support de l'activité antibactérienne.

L'ouverture de ce cycle par les bêta-lactamases, enzymes secrétées par certains germes bactériens rend la molécule inactive par formation de dérivés inactifs.

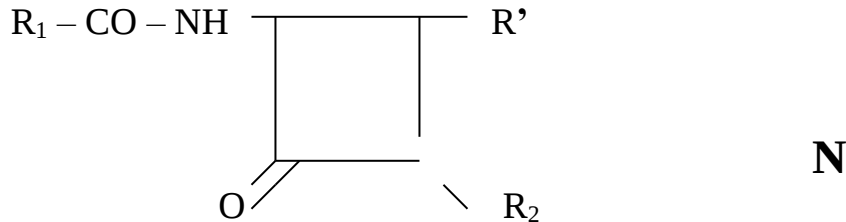


Figure 1 : Cycle bêta-lactame (11)

II/ CLASSIFICATION

C'est l'une des familles d'antibiotiques les plus prolifiques. Elles agissent sur la paroi bactérienne et possèdent en commun un cycle bêta-lactame responsable de l'activité antibactérienne.

II-1 LES PENICILLINES

Leur structure comprend un cycle bêta-lactame accolé à un thiazolidine. Selon la nature des substituants greffés à ce noyau, on distinguera dans ce groupe :

- Les Pénicillines naturelles (G et V)

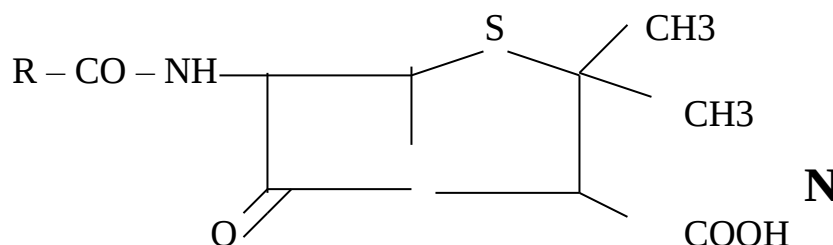


Figure 2 : Structure des pénames (11)

- Les Pénicillines du groupe A (aminopénicillines) : Amoxicilline – Ampicilline
- Les Pénicillines du groupe M (iso-oxazolyl pénicillines) : Oxacilline - flucloxacilline
- Les carboxypénicillines : carbénicilline – ticarcilline
- Les ureidopénicillines : (pipéracilline – azlocilline – mezlocilline)
- Les amidinopénicillines (pivmecillinam)

Lorsque S = O → Oxapéname ou clavame

S'il y a double liaison → Pénèmes (Imipénème)

S = CH₂ → Carbapénames

II-2 LES CEPHALOSPORINES

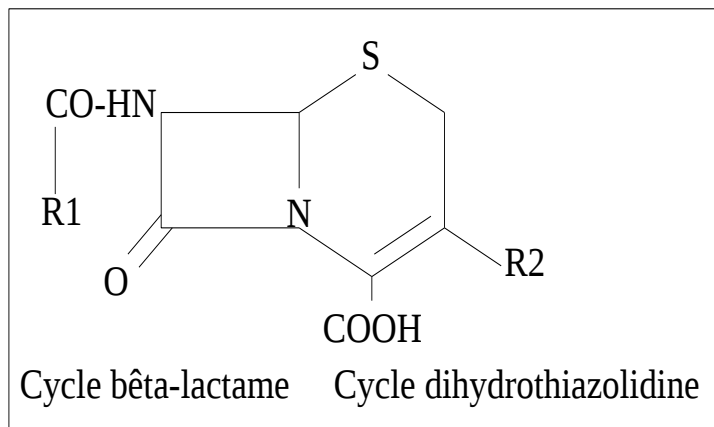


Figure 3 : Structure des Céphèmes (11)

Lorsque S = O → Oxacephèmes

Les céphalosporines ont pour noyau commun l'acide 7 amino céphalosporinique. Leur classification repose sur leur spectre d'activité de plus en plus large que sur leur structure chimique commune.

- 1^{ère} génération : Céfadroxil – céfalotine – céfazoline – céfalexine - céfaloridine
- 2^{ème} génération : Céfamandole – céfuroxime – céfatrizine – céfaclor – céforadine
- 3^{ème} génération : Céfotaxime - ceftazidime – ceftriaxone – céfopérazone
- Large spectre : Céfépime – céfpirome

II-3 LES MONOBACTAMES : AZTREONAM

Sont caractérisés par une forte stabilité en présence de bêta-lactamases. Cette stabilité est due au groupement SO_3H encombrant protecteur du cycle bêta-lactame.

III/ PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES (11)

III-1 LES PENICILLINES

Les pénicillines G et V se présentent sous la forme de poudre cristalline blanche inodore de saveur amère hygroscopique. Les sels sont solubles dans l'eau.

La présence de groupement carboxylique en position 3 du noyau confère aux pénicillines un caractère acide ($\text{pka} = 2,5 \text{ à } 2,75$) qui a comme conséquence la possibilité de formation de sels. Les pénicillines sont instables selon la structure en milieu acide et en milieu alcalin.

Leur hydrolyse en présence de bêta-lactamases conduit à des dérivés inactifs (acide pénicilloïque).

III-2 CEPHALOSPORINES

La stabilité chimique des céphalosporines dépend aussi de la fragilité de l'azétidine - 2 - one. La présence d'une double liaison sur le noyau thiazole entre le groupement carboxyle et R_3 conduit à une forte mésométrie qui limite la résonance électronique de la liaison $\text{O}=\text{C} - \text{N}$ et en facilite la rupture.

Les bases ouvrent l'azétidine 2 – one et forment l'acide céphalosporoïque inactif. En raison du carboxyle en 4 couplé à une double liaison les céphalosporines se comportent comme des acides α, β insaturés ($\text{pka} = 1,5 - 2,7$). Elles forment des sels

solubles dans l'eau, des esters. La nature de la chaîne acylaminée γ est déterminante pour la stabilité.

Les céphalosporines sont plus stables en milieu acide que les pénicillines.

III-3 LES MONOBACTAMES

Les monobactames présentent une activité antibactérienne intéressante due à leur stabilité. La présence du groupe acide sulfonique fortement négatif en position 1 contribue à l'acétylation des PLP des bactéries à Gram négatif manifestant une activité transpeptidase. Le groupement α -méthylé en 2 augmente la stabilité aux bêta-lactames. Elles possèdent 3 pKa (0,7 ; 2,75 et 3,91) qui leur confèrent une structure zwitterionique.

IV/ PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES (11, 33, 44)

IV-1 PENICILLINES NATURELLES

La pénicilline G, détruite par l'activité gastrique, nécessite la voie veineuse dans les indications actuelles, en divisant la dose quotidienne en 6 injections continues de 4 heures (demi vie de 30mn). Sa diffusion dans le LCR est faible même en cas de méningite. Elle s'élimine rapidement par voie rénale sous forme active.

La pénicilline V, absorbable par voie orale, nécessite 3 ou 4 prises quotidiennes.

IV-2 PENICILLINES DU GROUPE A

L'absorption digestive médiocre pour l'ampicilline, est meilleure pour la bac ampicilline, la pirampicilline et l'amoxicilline. Leur diffusion est bonne dans la bile,

dans le LCR à forte posologie, médiocre dans la prostate. Leur élimination se fait par voie biliaire et urinaire sous forme active. La diffusion est extracellulaire.

IV-3 PENICILLINES DU GROUPE M

L'absorption orale de cloxacilline et dicloxacilline est meilleure que pour l'oxacilline.

Leur diffusion est très faible dans l'œil, le tissu cérébral, le LCR et la prostate.

Elles s'éliminent uniquement par voie urinaire sous forme active.

IV-4 CARBOXYPENICILLINES

Concentration sérique élevée : 190mg/l après injection de 3 g/IV de ticarcilline.

Diffusion méningée insuffisante pour le traitement des méningites à bacilles Gram négatif.

Demi-vie d'élimination environ 1 heure, élimination rénale prépondérante.

IV-5 UREIDOPENICILLINES

Voie parentérale exclusive.

Taux sériques importants (200mg/l pour pipéracilline, 166mg/l pour mezlocilline après administration de 2g/IV).

Bonne diffusion méningée (15 à 25%) des concentrations sériques).

Diffusion très intéressante dans la bile avec taux biliaires largement supérieurs aux taux sériques.

Demi-vie d'élimination de l'ordre d'une heure chez le sujet à fonction rénale normale.

Elimination urinaire sous forme active inchangée. Il faut adapter la posologie chez l'insuffisant rénal.

Faible liaison protéique donc les molécules sont ultrafiltrables d'où la nécessité de ré injection après dialyse.

IV-6 CARBAPENEMES

L'absorption est quasiment nulle. Il doit être administré par voie intraveineuse. La demi-vie d'élimination est d'une heure chez les sujets à fonction rénale normale, elle peut atteindre 6 à 8 heures en cas d'insuffisance rénale. La dose habituelle doit être diminuée de moitié. Nécessité de réinjection après dialyse.

Les concentrations tissulaires sont au dessus des CMI de la plupart des pathogènes habituellement sensibles.

IV-7 LES CEPHALOSPORINES

Leur absorption par voie orale nécessite 3 ou 4 prises quotidiennes. Absorption rapide par voie intra musculaire, environ 30min après l'administration d'une dose unique . Leur concentration sérique est élevée (exemple : pour 1g de céfotaxime, la concentration dans le sérum atteint 20µg/ml). La demi-vie d'élimination est d'environ 1 heure. La diffusion est bonne dans tous les tissus. Pour la céfotaxime 40% adhère aux protéines du plasma. Environ 60% de la dose administrée se retrouve dans les urines en 24 heures sous forme inchangée ; 20% est éliminé sous forme métabolite.

V/ MECANISME D'ACTION (13, 44, 59)

L'activité antibactérienne d'une bêta-lactamine résulte de plusieurs phénomènes notamment :

- La pénétration des bêta-lactamines dans la bactérie
- Leur comportement vis à vis des bêta-lactamases péri plasmiques
- Leur interactions avec les PLP
- La lyse bactérienne : effet bactéricide

V-1 PENETRATION DES BETA-LACTAMINES DANS LA BACTERIE

Les bêta-lactamines sont des acides organiques relativement forts ($pka = 2,7$). Du fait de leur solubilité dans l'eau et leur complète ionisation en solution, elles ont des difficultés à diffuser à travers les membranes. Cependant, leur cible se situe sur la partie externe de la membrane cytoplasmique. La paroi est le seul obstacle entre les bêta-lactamines et leurs cibles. La composition de la paroi, variable selon la nature de la bactérie déterminera pour une part la sensibilité de la bactérie aux bêta-lactamines.

V-2 COMPORTEMENT VIS A VIS DES BETA-LACTAMASES PERIPLASMIQUES

Le comportement d'une bêta-lactamine dans l'espace péri plasmatique est le rapport existant entre sa vitesse de pénétration et sa résistance aux bêta-lactamases péri plasmatiques.

En effet, plus les céphalosporines sont stables vis à vis des bêta-lactamases , plus elles ont de la peine à pénétrer jusqu'aux protéines cibles.

V-3 INTERACTION AVEC LES PLP

Les PLP constituent le site d'action des bêta-lactamines. Elles représentent les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (transpeptidase, carboxypeptidase et glycosulfatransférases). L'inhibition de ces enzymes par les bêta-lactamases se traduit par une inhibition de synthèse du peptidoglycane.

L'inactivation des PLP se fait par formation de complexes covalents avec les bêta-lactamines.

L'effet d'une bêta-lactamine dépend donc de l'affinité qu'elle a pour les différents PLP et en particulier pour la cible essentielle ; car chaque bêta-lactamine a une affinité maximale pour une certaine PLP. Cette affinité est déterminée à faibles concentrations d'antibiotiques.

Les conséquences de la fixation se traduisent sur le plan morphologique par trois effets.

- Formation de filaments avec lyse tardive
- Formation de sphéroplastes avec lyse précoce
- Apparition de formes rondes, globuleuses, osmotiquement stables avec lyse bactérienne tardive.

V-4 LYSE BACTERIENNE : EFFET BACTERICIDE

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides.

Dans la majorité des cas, l'effet bactéricide de bêta-lactamines repose sur la mise en jeu d'autres groupes d'enzymes qui sont impliquées dans la dégradation du peptidoglycane.

Ces enzymes sont des enzymes du système lytique.

VI/ MECANISME DE RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES

VI-1 NOTION DE RESISTANCE

Pour chaque antibiotique, est défini un spectre d'activité, c'est à dire l'éventail des espèces bactériennes « **sensibles** », susceptibles d'être inhibées par des concentrations de cet antibiotique (surtout *in vivo*, après utilisation d'une posologie standard).

Une espèce non sensible, qui n'entre pas dans le spectre d'activité d'un antibiotique est dite résistante.

Cette résistance est liée à un ou plusieurs mécanismes biochimiques, qui implique l'étude des interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie.

Plusieurs définitions de la résistance des bactéries aux antibiotiques ont été retenues : selon certains auteurs.

- Une souche est dite « **résistante** » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (49).
- Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration pouvant être atteinte *in vivo* (49).
- Une bactérie résiste à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de croître en présence d'une concentration significativement plus élevée de cet antibiotique (17).

Il existe plusieurs types de résistances bactériennes aux antibiotiques.

VI-2 TYPES DE RESISTANCE

VI-2-1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou « **intrinsèque** » correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien à un antibiotique.

Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel des espèces.

On peut citer les résistances naturelles de *Staphylococcus aureus* et des entérobactéries aux bêta-lactamines (pénicilline G, ampicilline et céphalosporines).

VI-2-2 Résistance acquise

La résistance acquise correspond à l'acquisition d'une résistance à un antibiotique par une souche normalement sensible. Elle n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible à l'inverse de la résistance naturelle qui est caractéristique de l'espèce (18).

La résistance acquise est évolutive, elle varie en fonction du temps, de la localisation (épidémie), de l'utilisation des antibiotiques.

L'acquisition de la résistance peut être liée à un apport plasmidique ou à une mutation chromosomique.

Cette résistance acquise observée *in vitro* et *in vivo* pour la plupart des bactéries et des antibiotiques rend nécessaire l'étude de la sensibilité des bactéries au laboratoire.

VI-3 SUPPORT GENETIQUE DE LA RESISTANCE

La cellule bactérienne contient un matériel génétique double :

- Un chromosome, représentant le noyau de la cellule bactérienne, il est indispensable à la vie de la bactérie. Ce chromosome est constitué par un long filament d'ADN pelotonné et qui porte un grand nombre d'informations génétiques ;
- La bactérie peut contenir, dans son cytoplasme, un ou plusieurs **plasmides**. Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaires circulaires, extra-chromosomiques ; données de répllication autonome et qui sont transmises de façon stable au cours des générations. En général, les plasmides naturels des procaryotes ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie hôte.

Le mécanisme de résistance aux antibiotiques est fonction d'une information portée par le code génétique.

La résistance peut être codée :

- ✓ par le chromosome bactérien, elle est dite chromosomique
- ✓ ou par le plasmide, elle est dite plasmidique

VI-3-1 Résistance chromosomique par mutation

L'acquisition de la résistance est due à la mutation d'un gène chromosomique.

La mutation correspond à une addition, une délétion ou une substitution de bases dont la conséquence est une erreur de lecture du code génétique. Cette modification entraîne une résistance soit en rendant la cellule imperméable à ces antibiotiques ; soit

en rendant les cibles pariétales (protéines de liaison à la pénicilline) ou intracellulaire (ADN gyrase, ARN polymérase, ribosomes), spécifiques de ces antibiotiques, indifférentes à la présence de ou des antibiotiques ; soit en codant pour la synthèse d'enzymes inactivantes.

Ce type de résistance est un phénomène spontané, rare (la fréquence des mutants dans une population donnée est de 10^{-6} à 10^{-9}) indépendant de l'antibiotique qui n'agit qu'en tant qu'agent sélecteur en éliminant les populations sensibles ; spécifiques, héréditaires et stables (les fréquences de réversion sont équivalentes à celles des mutations) mais non transmissibles en dehors de la progéniture.

VI-3-2 Résistance par acquisition de gène

L'acquisition d'une information génétique sous forme de plasmide entraîne la synthèse de protéines nouvelle par la bactérie réceptrice. Celle-ci initialement sensible devient résistante à un ou plusieurs antibiotiques. La résistance peut alors être due à :

- l'altération de la cible de l'antibiotique
- la modification du transport de l'antibiotique (baisse de l'import actif ou mise en œuvre d'un export actif)
- l'inactivation de l'antibiotique
- substitution de la cible de l'antibiotique

Les plasmides de résistance peuvent se retrouver au niveau du génome bactérien. A l'inverse on peut retrouver des transposons initialement localisés au niveau du chromosome sur des plasmides.

VI-3-3 Résistance par dérégulation du gène

Le patrimoine génétique d'une bactérie peut naturellement renfermer un gène codant pour la résistance à un ou plusieurs antibiotiques (65). Ce gène est cependant non exprimé par suite d'un blocage par le produit du gène répresseur en amont. Une mutation du gène réprimé ou l'action inductrice de certains antibiotiques (bêta-lactamines) peuvent entraîner une dé répression de ce gène de résistance et vont entraîner la sélection de souches résistantes aux molécules concernées.

Ce type de résistance est stable si une mutation est en cause mais il régressera avec retour au phénotype initial à l'arrêt de l'antibiothérapie si un mécanisme d'induction est en cause.

VI-4 MECANISMES DE RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES

Les bêta-lactamines agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation sur les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui sont des enzymes (transpeptidase et carboxypeptidase) essentielles à la synthèse du peptidoglycane.

La résistance acquise des bactéries aux bêta-lactamines peut être la conséquence de trois mécanismes distincts :

- l'imperméabilité de la paroi bactérienne à l'antibiotique,
- l'inactivation de la molécule par une enzyme ouvrant le cycle bêta-lactame,
- la modification de l'affinité des PLP pour l'antibiotique.

VI-4-1 Résistance par production d'enzyme (5, 16, 19)

La production d'enzymes capables d'inactiver les bêta-lactamines demeure le mécanisme de résistance le plus largement distribué parmi les nombreuses espèces bactériennes.

La production de bêta-lactamases est observée chez presque toutes les espèces bactériennes.

Les bêta-lactamases sont des enzymes d'inactivation du cycle bêta-lactame.

La découverte dès 1940 d'extraits bruts de bacilles à gramme négatif (*Escherichia coli*) inactivant la benzylpenicilline montra l'existence d'un mécanisme de résistance par synthèse de « pénicillinase ».

La pénicillinase de *Staphylococcus aureus* sera mise en évidence en 1944.

La diversité des bêta-lactamases oblige à une identification de plus en plus précise permettant de les classer.

Plusieurs classifications ont été proposées selon leurs propriétés physico-chimiques, la nature de leurs inhibiteurs, leur localisation génétique (plasmide ou chromosome), leur hôte habituel, la séquence nucléotidique de leurs gènes ou leur composition en acides aminés, leur localisation bactérienne (exo cellulaire ou péri plasmiques), leurs affinités pour les différents substrats (15, 62).

Le **tableau I** propose une classification schématique des principales bêta-lactamases des germes aérobies d'intérêt médical qui bien que non exhaustive permet une visualisation synthétique (44).

La possession par une bactérie d'une ou de plusieurs de ces enzymes va lui conférer un phénotype de résistance aux bêta-lactamines spécifiques dont la connaissance est primordiale dans le choix d'un traitement par cette famille d'antibiotiques (**tableau II**) (44).

- Les pénicillinases

Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines. Une faible action peut être observée avec les céphalosporines de première génération.

Les gènes codant pour les pénicillines sont portés essentiellement par les plasmides. Cependant on retrouve chez *Klebsiella pneumoniae* une enzyme type pénicillinase SHV-1 dont le support génétique est le chromosome.

Ces pénicillinases sont fabriquées en permanence par la bactérie en l'absence de tout inducteur (constitutives).

Il existe une très grande variété de pénicillinases : TEM, SHV, OXA, PSE. Elles peuvent être spécifiques à un genre (pénicillinases de Staphylococcus aureus) ou largement distribuées.

L'enzyme de type **TEM** est retrouvée chez *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pasterella*, *Pseudomonas* et les entérobactéries.

Elle inactive les aminopenicillines, les carboxpenicillines, les ureidopenicillines et les premières céphalosporines.

Depuis 1983, des bêta-lactamases ayant un spectre très large sont apparues : ce sont des bêta-lactamases à spectre étendu (**BLSE**) (66).

Elles inactivent entre autres les céphalosporines de type oxyimine. La plupart de ces enzymes sont des mutants de TEM ou SHV (avec des substitutions d'acides aminés proches du site enzymatique, ce qui entraîne une affinité et une hydrolyse augmentée propre aux bêta-lactamines utilisés actuellement à l'hôpital. Ces bêta-lactamases sont retrouvées chez de nombreuses entérobactéries : *Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia* (62, 66).

Elles peuvent s'exprimer à bas niveau ou haut niveau conduisant à des phénotypes de résistance très hétérogènes.

Le phénotype « céphalosporinase bas niveau » correspond généralement au phénotype sauvage de l'espèce.

Le phénotype « céphalosporinase haut niveau » correspond aux souches sécrétant des enzymes qui hydrolysent des bêta-lactamines à l'exception de l'imipenem et du mecillinam.

Ce phénotype est retrouvé essentiellement chez certaines entérobactéries (*Serratia*, *Enterobacter*, *Morganella*) et chez les *Pseudomonas* où ce mécanisme de production de bêta-lactamases inductibles ne se fera qu'en présence d'un inducteur qui est très souvent une bêta-lactamine. Il existe cependant des inducteurs non spécifiques qui ne sont pas des bêta-lactamines.

L'autre moyen de produire plus d'enzymes serait la sélection de mutantes. La mutation se traduit par la production constitutive d'une quantité 100 à 5.000 fois plus importante que le phénotype « céphalosporinase bas niveau ».

Autres que les bêta-lactamases, des enzymes comme les estérases coupent la chaîne latérale des céphalosporines. Les amidases hydrolysent la chaîne latérale des bêta-lactamines et libèrent l'acide amino-7-céphalosporanique dans le cas des céphalosporines et l'acide amino-6-pénicillanique dans le cas des pénicillines.

Tableau I : Classification schématique des principales bêta-lactamases des bactérie essentielles aérobies à Gram négatif (44)

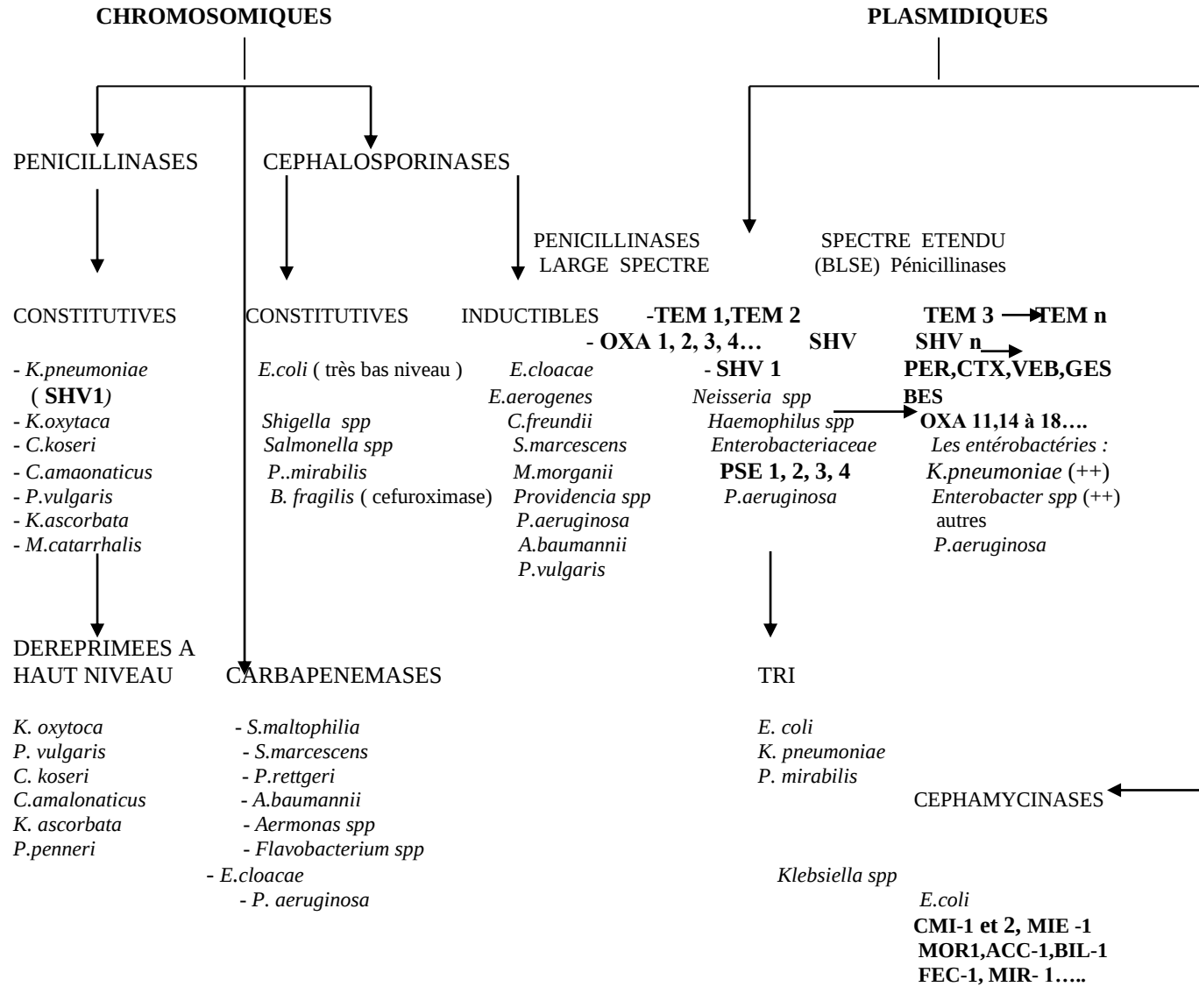


Tableau II : bêta-lactamine actives et inactives sur les souches de bêta-lactamases (44)

TYPES DE BETA LACTAMASES	ESPECES BACTERIENNES	BETA LACTAMINES INACTIVEES	BETA LACTAMINES NON INACTIVEES
Bêta-lactamases plasmidiques à spectre large	Bactéries à Gram négatif	Aminopénicillines, Carboxypénicillines Ureidopenicillines, CIG , CIIG	Céphamycines, CIIG , Carbapenemes, Monobactames, Cefepime, Cefpirome
BLSE ¹ de type TEM / SHV	<i>K.pneumoniae</i> <i>E.coli</i> , <i>C.freundii</i> , <i>S.marcescens</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>P.aeruginosa</i>	Aminopénicillines, Carboxypénicillines, Ureidopenicillines CIG , CIIG ,CIIG Monobactames, Cefipime Cefpirome	Céphamycines, Carbapenemes, β- lactamine + IBL
Cephalosporinase chromosomique dereprimee	<i>M.morgannii</i> <i>E.cloacae</i> , <i>C.freundii</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.marcescens</i> <i>P.rettgeri</i> <i>P. stuarttii</i>	Aminopénicillines, Carboxypénicillines Ureidopenicillines CIG , CIIG ,CIIG Monobactames Céphamycines	Carbapenemes Cefepime , Cefpirome (selon antibiogramme)
Cephalosporinase Plasmidique de type Amp ^C	<i>K.pneumoniae</i> <i>E.coli</i> <i>P.mirabilis</i>	Aminopénicillines Carboxypénicillines Ureidopenicillines CIG , CIIG ,CIIG Monobactames, Céphamycines	Carbapenemes Cefepime, Cefpirome (selon antibiogramme)
Carbapenemase Chromosomique	<i>S.maltophilia</i> , <i>B.fragilis</i> <i>S.marcescens</i> (rare) <i>E. cloacae</i> (rare)	Aminopenicillines, Carboxypénicillines Imipeneme	Variable, à tester
Carbapenemase plasmidique	<i>P.aeruginosa</i>	Aminopénicillines Carboxypénicillines Imipeneme	Aztréonam Pipéracilline

VI-4-2 Résistance non enzymatique

Les mécanismes de résistance non enzymatique diffèrent selon les bactéries à Gram positif ou négatif.

○ Chez les bactéries à Gram positif

C'est la modification des PLP qui représente le mécanisme principal de la résistance non enzymatique chez ces bactéries (36).

Plusieurs PLP sont présentes dans chaque espèce et parmi celles-ci, il existe généralement une PLP dite « essentielle », dont l'affinité pour les bêta-lactamines est corrélée à la CMI (42).

Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrés :

- ✓ La diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les bêta-lactamines. Dans ce cas, elle est diminuée pour toutes les bêta-lactamines mais de manière inégale selon les molécules.
- ✓ L'augmentation de la quantité chez les entérocoques
- ✓ L'acquisition d'une nouvelle PLP qui va prendre le rôle de PLP essentielle. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline. La résistance aux bêta-lactamines par modification des PLP est croisée pour toutes les bêta-lactamines (36).

○ Chez les bactéries à Gram négatif

La structure particulière des bactéries à Gram négatif leur confère un ensemble de mécanismes biochimiques de résistance aux bêta-lactamines qu'on peut trouver chez les bactéries à gram positif.

- ✓ Rôle de la perméabilité dans la résistance des bactéries Gram négatif aux bêta-lactamines.

Il existe au dessus du peptidoglycane une barrière de diffusion liée à la présence de la membrane externe.

Chez ces bactéries, la pénétration des bêta-lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau.

La sensibilité aux antibiotiques dépend du nombre de porines fonctionnelles.

- ✓ Rôle des PLP dans la résistance des bactéries à Gram négatif aux bêta-lactamines.

L'efficacité des bêta-lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP. La liaison antibiotique / cible est liée à la structure de la cible. Diverses mutations peuvent entraîner des modifications diminuant l'efficacité de l'antibiotique.

VI-4-3 Phénotypes de résistance des Cocci à Gram positif aux bêta-lactamines (44)

VI-4-3-1 Résistance des Staphylocoques aux bêta-lactamines

La production d'une pénicillinase plasmidique, inductible inactive les pénicillines A et G, les carboxypénicillines et les ureidopénicillines. Cette pénicillinase est inactivée par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam).

Les pénicillines M et les céphalosporines ne sont pas inactivées.

La résistance à la méthicilline peut être due par plusieurs mécanismes :

- Modification de la cible : par production anormale de PLP codée par un gène chromosomique *mecA*.
- Hyperproduction de Bêta-lactamases de certaines souches (souche BORSA)
- Production de méthicillinase

- Modification des PLP : autres que la PLP 2a souche (MODSA) souches résistantes à bas niveau à l'oxacilline et non productrices de Bêta-lactamases.

Tableau III : Phénotypes de résistance acquise des Staphylocoques aux Béta-lactamines (44)

	Pénicilline G Pénicilline A Carboxy pénicilline Uréidopénicilline Sauvage	antibiotiques, inhibiteur de Bêta-lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénèmes
Sauvage	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S
Modification des PLP, gène MecA	R	R	R	R
BORSA (rare)	R	S/R	R	S
MODSA (rare)	S	S	R	S

Méthicillino résistance (ou oxacilline et dérivées) (40)

C'est en 1960 que les premières souches de *Streptococcus aureus* résistantes à la méthicilline (S.A R.M) ont été observées en Angleterre.

La particularité de ce type de résistance est liée à son expression « hétérogène ». Ce qui veut dire que seule une fraction de la population est capable d'exprimer la résistance : en moyenne une bactérie sur 10^4 à 10^6 exprime la résistance.

Chez les S.A.R.M, la résistance à la méthicilline est due à la synthèse d'une nouvelle PLP appelée PLP2a pour laquelle les Bêta-lactamines n'auraient qu'une faible affinité. Cette synthèse serait inductible, expliquant ainsi le caractère plus ou moins hétérogène de la résistance en fonction de la souche, de l'antibiotique étudié et des différents facteurs préalablement cités.

La résistance à la méthicilline est croisée avec celle de toutes les autres Bêta-lactamines *in vitro* mais aussi *in vivo*.

Les S.A.R.M sont producteurs d'une pénicillinase sauf quelques rares souches. Ils sont toujours résistants à la Streptomycine, aux tétracyclines, aux sulfamides et généralement à l'érythromycine.

VI-4-3-2 Phénotypes de résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux Bêta-lactamines (44)

La résistance du pneumocoque aux antibiotiques notamment à la pénicilline G, ne fait qu'augmenter d'année en année et s'étendre à travers le monde.

Cette résistance est d'origine chromosomique et due à des modifications qualitatives et quantitatives des PLP.

La résistance à la pénicilline est croisée à toutes les Bêta-lactamines mais s'exprime à des niveaux différents selon les molécules.

La détection de cette résistance s'effectue par dépistage par un disque d'oxacilline chargé à 5µg.

Tableau IV : Activité comparée de différentes Bêta-lactamines sur les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G (CMI de la pénicilline G > 0,06mg/l) (44)

Bêta-lactamines plus actives	Pénicilline	Bêta-lactamines moins actives
Imipénème	Ampicilline	Pipéracilline
Amoxicilline	Cefpodoxine	Cefuroxime
Céfotaxime Ceftriaxone		Céfopérazone Oxacilline Céfixime Céfaclor Céfotétan

VI-4-4 Phénotypes de résistance des bacilles à Gram négatif

VI-4-4-1 Phénotypes de résistance des entérobactéries aux Bêta-lactamines

Les groupes d'entérobactéries de sensibilité naturelle aux Bêta-lactamases déterminent les phénotypes sauvages.

Les entérobactéries sont classées en 4 groupes selon leur sensibilité naturelle aux Bêta-lactamines.

- **Groupe I** : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*

Tableau V : Phénotypes de résistance des germes appartenant au Groupe I (44)

Antibiotiques	Phénotype sauvage	PB N	PHN	Céphalosporinase	TRI	BLSE	CHN
Aminopénicilline	S	R	R	R	R	R	R
Aminopéni + IBL	S	S	I/R	R	R	R	R
Carboxypénicilline	S	R	R	S	R	R	R
Uréidopénicilline	S	I/R	I/R	S	R	R	R
CSP I	S	I	I/R	R	S	R	R
CSP II	S	S	S/R	S	S	R	R
CSP III	S	S	S	S	S	S	R
CCSP III + IBL	S	S	S	S	S	S	R
Céphamycines	S	S	S	S/R	S	S	R
Céphalosporines à large spectre	S	S	S	S	S	R	S
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S

- **Groupe II** : *Klebsiella spp*, *C. koseri*, *C. amalomactimus*, *E.hermannii*

Tableau VI : Phénotypes de résistance des germes appartenant au groupe II (44)

Antibiotiques	Phénotype sauvage (= PBN)	PHN	BLSE	CHN
Aminopénicillines	R	R	R	R
Aminopéni + IBL	S	R	R	R
Carboxypénicillines	R	R	R	R
Uréidopénicillines	I	R	R	R
CSP I	S	R	R	R
CSP II	S	I/R	R	R
CSP III	S	S	R	R
CSP III + IBL	S	S	S	R
céphamvcines	S	S	S	R
CSP à large spectre	S	S	R	S
Carbapénèmes	S	S	S	S

- **Groupe III** : *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Morgella spp*

Tableau VII : Phénotypes de résistance des germes appartenant au Groupe III (44)

Antibiotiques	Phénotype sauvage = PBN	PNH	BLSE	CHN
Aminopénicillines	R	R	R	R
Aminopéni+IBL	R	R	R	R
Carboxypénicilline	S	R	R	R
Uréidopénicillines	S	R	R	R
CSP I	R	R	R	R
CSP II	S/R	R	R	R
CSP III	S	S	R	R
CSP III+IBL	S	S	S	R
Céphamycines	S/R	S/R	S/R	R
CSP à large spectre	S	S	R	S/I
Carbapénèmes	S	S	S	S

- **Groupe IV** : *Yersinia enterocolitica*.

Tableau VIII : Phénotypes de résistance des germes appartenant au Groupe IV (44)

Antibiotiques	Phénotype sauvage = PBN	BLSE
Aminopénicillines	R	R
Aminopéni + IBL	R	R
Carboxypénicilline	R	R
Uréidopénicillines	I/R	R
CSP I	R	R
CSP II	S	R
CSP III	S	R
CSP III+IBL	S	S
Céphamycines	S	S
CSP à large spectre	S	R
Carbapénèmes	S	S

VI-4-4-2 *Pseudomonas aeruginosa*

Le phénotype sauvage est due à la production d'une céphalosporinase inductible par les aminopénicillines et les céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération couplée à une imperméabilité plus ou moins marquée et d'un système d'efflux actif.

Ce phénotype se traduit par une résistance aux aminopénicillines, seules ou associées à des inhibiteurs de Bêta-lactamases et aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération.

Il reste sensible aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines, à certains CSP III aux monobactames et aux carbapénèmes.

Les résistances acquises sont liées à des mécanismes enzymatiques (pénicillinases, céphalosporinases, BLSE) ou non enzymatiques (imperméabilité, efflux et cibles).

Tableau IX : Phénotypes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêta-lactamines (44)

Antibiotiques	Phénotype sauvage	Pénicillinase	CHN	BLSE		Carbapénamases
				OXA	PER	
Ticarcilline	S	R	R	R	R	R
Ticarcilline Ac clav	S	S	R	R	S	R
Pipéracilline	S	R	R	R	R	S
Pipéracilline-Tazobactam	S	S	R	R	S	S
Céfopéroxone	S	R	R	R	R	R
Ceftazidime	S	S	R	R	R	R
Cefepime	S	S	S/R	R	R	R
Cefpirome	S	S	S/R	R	R	R
Aztreonam	S	S	R	R	R	S
Imipénème	S	S	S	S	S	R

VI-4-4-3 *Haemophilus influenzae*

La résistance est liée le plus souvent à la production de Bêta-lactamases plasmidique de type TEM qui inactivent les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines.

L'association amoxicilline- acide clavulanique et les CSPIII restent généralement actives.

La résistance par modification des PLP est due à l'altération d'une ou plusieurs PLP et confère un bas niveau de résistance à toutes les Bêta-lactamines.

VII/ METHODES DE DETERMINATION « *IN VITRO* » DES CMI

VII-1 DEFINITION DE LA CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique inhibant en 18 à 24 heures la multiplication des bactéries.

Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories :

sensible (S) : lorsque la CMI déterminée *in vitro* est inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique.

résistante (R) : lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte *in vitro* sans utiliser des doses toxiques.

intermédiaire (I) : lorsque, à cause de la valeur élevée de la CMI, les micro-organismes ne pourront être atteints avec une antibiothérapie standard, mais pourront l'être par un traitement administré par voie générale à forte dose (possible seulement avec les produits pas ou peu toxiques) ou par voie locale, ou encore si l'antibiotique se concentre là où siège l'infection.

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être réalisée en recourant à une méthode par dilution ou par diffusion de l'antibiotique.

VII-2 METHODE PAR DILUTION

C'est la méthode de référence. Elle peut être pratiquée en milieu liquide ou solide.

VII-2-1 Méthode par dilution en milieu liquide

On prépare une série d'une dizaine de tubes à hémolyse stériles (ou dans les cupules d'une plaque) dans lesquels on répartit une même quantité de bouillon nutritif ensemencé avec une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance, diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10^6 bactéries / ml (inoculum microbien optiquement invisible). On distribue ensuite dans chaque tube à l'exception du premier qui servira de témoin, sous un même volume, des concentrations croissantes de l'antibiotique étudié, en réalisant une gamme de concentration en progression géométrique de raison 2. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, on observe macroscopiquement pour déterminer la CMI.

Dans un certain nombre de tubes, la culture s'est développée ; un trouble nettement visible en est la traduction. A partir d'une certaine concentration, il n'y a plus de culture visible. Le premier tube dans lequel il n'y a plus de culture indique la CMI encore appelée taux inhibiteur ou taux de sensibilité de la souche étudiée.

VII-2-2 Méthode par dilution en milieu solide

Consiste à incorporer l'antibiotique dans la gélose coulée en boîte de pétri, réalisant comme précédemment une gamme de concentrations croissantes.

La souche est ensemencée en une strie ou en spot à la surface de la gélose.

Ces deux techniques de dilution sont très laborieuses et ne sont pas habituellement appliquées à la détermination, en routine, de l'activité d'un grand

nombre d'antibiotiques sur une souche bactérienne. La méthode par diffusion permet de pallier à cet inconvénient.

VII-3 METHODE PAR DIFFUSION (ANTIBIOGRAMME : METHODE DES DISQUES)

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries (inoculum 10^6 bactéries / ml) en phase de croissance exponentielle. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).

Après incubation du milieu de culture (18 heures à 37°C), on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne : la multiplication des micro-organismes s'arrête là où existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI.

Pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur (approchée) de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée.

En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur du diamètre d'inhibition de croissance et celle de la CMI, celle ci étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des bactériennes différentes.

VII-4 MICRO METHODES D'ETUDE « IN VITRO » DE LA SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES

La détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été la première des séquences de l'analyse microbiologique qui a pleinement bénéficié de l'automatisation.

Les appareils utilisés fonctionnent schématiquement selon deux principes :

- ❖ Ils miment les tests conventionnels d'étude de la sensibilité (antibiogramme par diffusion ou détermination de la CMI en milieu liquide)
- ❖ Ils comparent la croissance d'un témoin à celle observée en présence d'une ou plusieurs concentrations d'antibiotiques à l'aide d'indices propres à chaque machine. La détection de la croissance peut se faire de manière :
 - **directe** : par turbidimétrie ou par néphélémétrie. La plupart des instruments utilisés ne détectent un trouble que si la densité bactérienne atteint 10^7 bactéries / :ml
 - **indirecte** : ces méthodes permettent d'estimer la biomasse en mesurant certaines activités enzymatiques bactériennes à l'aide de substrats chromogènes ou fluorigènes incorporés au milieu.

VII-5 LE E-TEST® (EPSILLOMETER-TEST)

C'est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester couvrant une zone de 15 dilutions allant de 0,016 à 256 mg/l ou de 0,002 à 32mg/l en fonction des molécules. Il a été standardisé conformément aux normes du comité national des laboratoires cliniques (NCCLS) (55).

Le E-test® associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide.

Les bandelettes sont des supports inertes, hydrophobes, de 5mm de large et de 50mm de long. Elles sont appliquées sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée avec la souche à étudier.

Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI.

Une échelle de lecture imprimée à la face supérieure de la bandelette, permet une interprétation rapide (lecture directe de la valeur de la CMI).

VII-6 LECTURE INTERPRETATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME

En matière d'antibiogramme, il ne suffit plus aujourd'hui de travailler correctement et de transcrire fidèlement les résultats bruts. Pour que l'antibiogramme soit directement utilisable par le biologiste, il faut procéder à une lecture interprétative des résultats bruts.

La lecture interprétative de l'antibiogramme consiste à déduire le génotype d'une bactérie (soit le mécanisme de résistance) à partir de l'expression visible sur l'antibiogramme (soit le phénotype) et à corriger la réponse brute de l'antibiogramme. Ceci est possible en étudiant un ensemble judicieusement sélectionné d'antibiotiques.

Ces antibiotiques peuvent ne pas être utilisés en thérapeutique mais testées, dans le but de détecter un certain nombre de mécanismes biochimiques de résistance.

L'antibiogramme sera donc conçu pour permettre une réponse valable pour chaque classe de molécule.

VIII/ DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUES DES BACTERIEMIES ET DES ETATS SEPTICEMIQUES

○ Les bactériémies

Elles correspondent à un passage bref et transitoire dans le sang de germes généralement peu abondants. Ne donnant lieu en principe à aucune manifestation clinique.

○ Les septicémies

Une septicémie est selon REILLY « une infection générale conditionnée par la présence constante ou passagère dans le sang de germes pathogènes et de leurs toxines. Issus de foyers septiques appréciables ou non, ils engendrent des signes

généraux graves tenant à la multiplication de germes dans les organes, à l'action de leurs toxines, aux effets de leurs toxines, aux effets nocifs des produits de dégradation cellulaire, tout symptôme laissant au second plan le foyer infectieux initial ».

Le diagnostic doit passer impérativement par l'isolement du germe responsable de l'infection :

- au niveau de la porte d'entrée
- dans le sang : par hémoculture
- dans les foyers septiques secondaires

VIII-1 PRELEVEMENT

VIII-1-1 Conditions préalables au prélèvement

La présence des bactéries dans le sang n'est habituellement pas permanente. En outre leur culture peut être compromise par la coexistence de substances inhibitrices dans le sérum (antibiotiques). Certaines règles sont donc à observer pour leur réalisation :

- prélever le sang dans des conditions rigoureuses d'asepsie ;
- pratiquer la prise de sang à jeun pour éviter la bactériémie post-prandiale ;
- tenir compte de la courbe thermique établie toutes les 3 heures en prélevant au moment des poussées de fièvre (densité microbienne optimale) ;
- faire les prélèvements le plus tôt possible dans l'évolution de la maladie ;
- pratiquer des hémocultures si possible avant tout traitement antibiotique ;
- pratiquer plusieurs prélèvements dans la journée.

VIII-1-2 Composition des milieux de culture

Les milieux sont, pour la plupart, constitués d'un milieu de base + inhibiteurs d'antibiotiques. Pour ces milieux de base, on distingue :

- le bouillon Trypticase-soja : il convient à la plupart des bactéries aérobies strictes et aéro-anaérobies (*Brucella*) ;
- le bouillon cœur-cerveille : même indication ;
- le bouillon Columbia et le bouillon Schaedler, des formules voisines, sont bien adaptées à la culture des bactéries anaérobies strictes ou facultatives mais ne sont pas recommandées pour celle des bactéries aérobies strictes.

Ils contiennent des substances réductrices (glucose et chlorhydrate de cystéine).

Il contiennent aussi des substances Tampon (Tri-hydroxyméthylaminométhane).

Les additifs sont constitués par les anticoagulants et les inhibiteurs. Les anticoagulants évitent la formation d'amas de fibrine qui gêneraient l'observation des bouillons et en emprisonnant les bactéries dans leur trame fibreuse. On en distingue deux types :

- le citrate trisodique : inhibe la culture de certaines bactéries à Gram + : concentration : 5% ;
- le SPS (Polyanéthol sulfonate de sodium) : et plus adapté. Il présente en outre l'avantage des propriétés anticomplémentaires et antiphagocitaires.

Concentration = 0,6mg/l car des doses supérieures risqueraient d'inhiber le développement de certains micro-organismes fragiles.

Les inhibiteurs d'antibiotiques sont très utiles dans le cas des malades déjà sous traitement. On a :

- l'acide para-aminobenzoïque : inhibe les sulfamides ;
- la pénicillinase : détruit la plupart des bêta-lactamines ;
- le citrate est antagoniste de la Streptomycine ;
- Les ions Mg^{2+} antagonisent les Tétracyclines ;
- Les SPS antagonisent les polymixines et les aminosides.

VIII-1-3 Conditionnement des milieux de culture

IL se fait dans des flacons ou dans des tubes « Vacutainer ». La plupart des milieux sont sous forme liquide mais, il est possible d'utiliser des systèmes diphasiques (ballons de Castaneda).

VIII-1-4 Technique de prélèvement

Le sang est recueilli par ponction veineuse, habituellement faite au niveau du pli du coude chez l'adulte. Chez le nouveau-né et le nourrisson, il faut recourir à d'autres lieux de ponction : veine épicroténienne, veine du cou du pied, veine ombilicale. Le dispositif de prélèvement comprend 2 aiguilles reliées entre elle par une tubulure en caoutchouc.

Il est nécessaire d'ensemencer un volume important de sang de l'ordre de 10 ml afin d'obtenir une dilution du 1/10 car le sang possède lui-même des propriétés antibactériennes. Ce volume est de 15 ml chez l'enfant.

VIII-2 EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

Dès l'arrivée au laboratoire les ballons d'hémoculture sont incubés à l'étuve à 37°C. Ils sont examinés chaque jour. Dans les cas habituels, la culture se développe 1 à 3 jours mais il est de règle de conserver les milieux de culture à l'étuve pendant 10 jours.

En routine de laboratoire, des délais supérieurs ne sont pas observés pour la recherche éventuelle de Brucella et leptospires (germes de diagnostic difficile).

VIII-2-1 Examen macroscopique

La coloration de Gram permet d'orienter sérieusement le diagnostic. La mobilité lorsqu'elle existe est particulièrement évidente. Deux cas peuvent se présenter :

- on peut trouver un seul type de bactéries dans l'hémoculture : on est alors confronté à une septicémie mono microbienne ;
- on peut observer 2 bactéries différentes à la coloration de Gram. On peut expliquer ce fait par :
 - ✓ l'établissement d'une septicémie polymicrobienne due à des germes pathogènes ;
 - ✓ le diagnostic de septicémie monomicrobienne doublée du développement d'une souillure.

VIII-2-2 Repiquage, Isolement et Identification

Les septicémies sont des infections graves dont l'évolution peut être rapide. C'est pourquoi les hémocultures sont des examens urgents. Le choix des techniques mises en œuvre doit être fait en fonction de cet impératif. C'est ainsi que l'antibiogramme est réalisé directement à partir du bouillon d'hémoculture dès qu'une culture peut y être décelée.

L'isolement sur gélose permet de vérifier la pureté de la souche qui s'est développé et de compléter la galerie d'identification, laquelle ne doit être interprétée que si la souche est pure.

VIII-2-3 Interprétation des hémocultures

VIII-2-3-1 Cas d'une hémoculture monomicrobienne

L'interprétation peut être évidente, la présence de certains germes dans le sang ne laisse aucun doute sur leur signification pathologique.

Exemple : *Salmonella*, Streptocoques du groupe A ou C, pneumocoque, *Brucella*, *Bacillus anthracis*, *Listeria*, *Neisseria meningitidis*.

Cependant, dans certains cas l'interprétation sera beaucoup plus délicate ; ainsi le même germe retrouvé dans le sang pourra :

- soit avoir une signification pathologique et être considérée comme responsable d'une septicémie.
- soit concrétiser le développement d'une souillure contractée lors du prélèvement de l'analyse ;
- soit provenir d'une simple bactériémie éphémère.

Dans ce cas, les résultats des examens cliniques, la nature du germe isolé, le résultat d'une nouvelle hémoculture permettent de résoudre le problème.

VIII-2-3-2 Cas d'une hémoculture polymicrobienne

▪ Complication d'une septicémie monomicrobienne

Elle peut être observée lorsque les 2 germes isolés sont impliqués dans le processus infectieux. Ce phénomène est rare depuis l'avènement de l'antibiothérapie.
Exemple : Staphylococcémie se greffant sur une fièvre typhoïde

▪ Conséquences de traitement aux immunodépresseurs

Les résistances à l'infection sont alors affaiblies, et cela peut faciliter l'envahissement de l'organisme par plusieurs espèces bactériennes souvent multirésistantes aux antibiotiques en milieu hospitalier. Un tel processus peut être observé chez les grands brûlés ou accidentés.

▪ Septicémie monomicrobienne doublée du développement d'une souillure

Certaines bactéries sont très souvent rencontrées comme germes de contamination :

- *Bacillus* (sauf *Bacillus anthracis*)
- Staphylocoques coagulase + (parfois aussi des staphylocoques coagulase-)
- Corynébactéries saprophytes (fréquentes sur la peau)
- *Serratia* (dans l'air et sur les téguments)

Cependant sur un terrain très affaibli, de tels germes peuvent exceptionnellement être à l'origine de septicémies.

Exemple : *Serratia* (origine chirurgicale, traumatisée, brûlés) ; Staphylocoques blancs (origine endocardique ou se développant sur un terrain déficient) ; *Bacillus subtilis* (des cas ont été signalés)

▪ Septicémie polymicrobienne, résultant de l'évolution d'une péritonite

Elle associe généralement une ou plusieurs espèces anaérobies (*Bactéricides*, *Peptococcus*, *Clostridium*) et aérobie (*Escherichia coli*, *Enterococcus*).

Bien souvent, seul le résultat d'une deuxième hémoculture permettra de savoir si une septicémie est poly ou monomicrobienne. Ceci est important pour le traitement, la sensibilité aux antibiotiques n'étant recherchée que pour les germes dont la signification pathologique est démontrée.

TRAVAIL PERSONNEL

I/ MATERIEL ET METHODE

I-1 MATERIEL

I-1-1 Cadre d'étude

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec (HALD) de Dakar.

I-1-2 Souches bactériennes

Notre étude a porté sur des souches bactériennes identifiées au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec, selon les méthodes classiques d'isolement et d'identification des bactéries.

Ces souches ont été isolées à partir des hémocultures provenant des différents services hospitaliers de l'HALD.

Les espèces bactériennes sur lesquelles nous avons travaillé sont :

- Les entérobactéries
- Les bacilles à Gram négatif non fermentaires
- Les cocci à Gram positif

I-1-3 Souches de référence

L'utilisation des souches de références permet de vérifier la conformité des résultats du test.

Les souches de références recommandées par NCCLS (55) sont :

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Escherichia coli* ATCC 35218
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Haemophilus influenzae* ATCC 49247

I-1-4 Antibiotiques testés

- **Amoxicilline**
- Amoxicilline / acide clavulanique
- Pénicilline G
- Oxacilline
- Ticarcilline
- Ticarcilline / acide clavulanique
- Céfoxitine
- Céfixime

- Céfotaxime
- Ceftriaxone
- Ceftazidime
- Imipenem

I-1-5 Matériel pour isolement et identification

- **Boîtes de Pétri**
- Anse de platine
- Tubes
- Lames porte objet
- Microscope optique
- Microplaques streptocoques CSB system (Mise au point par le laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec)
- Echelle MC Farland 4
- Pipette de 100 μ
- Embouts stériles
- Tubes à hémolyse stériles
- Etuves

I-1-6 Matériel pour l'étude de la sensibilité

- Applicateurs
- Tubes à hémolyse stériles
- Pipettes Pasteur
- Cassette pour sélection d'antibiotique
- Bandes adhésives
- Autoclave
- Pincettes
- Anse de Platine

- Coffret étalon Mac Farland
- Embouts
- pH mètre
- Ecouvillons stériles
- Boîtes de pétri 150 ou 90mm
- Guide de lecture E-test[®] et nouvelles normes NCC LS
- Paquet d'insertion de bandes
- Spectrophotomètre
- Tubes de stockage et dessiccateurs
- Générateurs de CO₂ + jarre
- Pipettes et micro pipettes

I-1-7 Matériel pour conservation

Nous avons utilisé pour cela des cryotubes type Nunc[®], des portoirs, des bandes adhésives, un réfrigérateur à -70° C.

I-1-8 Matériel pour exploitation des résultats

Le logiciel WHONET 5 a servi à l'exploitation des résultats.

Il s'agit d'une série de programmes informatiques qui facilite la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de germes bactériens.

Des programmes d'analyse utilisant ces données aident à la meilleure compréhension de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques et le développement de pratiques de prescription rationnelles et de procédures de contrôle des infections.

Ces données pourront être employées à un niveau local et pourront aider les laboratoires dans la sélection des antibiotiques en reconnaissant et en soulevant

des problèmes de résistance au plan local et en identifiant des problèmes de contrôle de qualité.

Le but du programme WHONET 5 est l'établissement de réseaux nationaux et internationaux de surveillance continue de la résistance sur une échelle assez large.

II/ METHODES

II-1 ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES

II-1-1 Isolement

Les souches bactériennes ont été isolées chez les malades pour qui on a effectué une hémoculture lors des pics fébriles.

Ces souches ont été isolées selon les procédés classiques utilisés en Bactériologie.

II-1-2 Identification

Elle repose sur l'étude des caractères bactériologiques, biochimiques et antigéniques.

II-2 METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est toujours d'actualité et une nécessité quotidienne pour tout prescripteur d'antibiotique qui est obligé d'y recourir en permanence. Elle compte en priorité une évaluation de l'effet bactériostatique des antibiotiques par la détermination de la CMI.

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée.

II-2-1 Méthode de détermination de la sensibilité E-test

○ Principe

Le E-test est une technique de détermination directe de la CMI qui associe les caractéristiques des méthodes de dilution et de diffusion en milieu gélosé.

Des bandelettes inertes de 5mm de large et 50mm de long, calibrée par un gradient de concentrations de l'antibiotique à tester couvrant une zone 0,016 à 256 mg/l ou de 0,002 à 32 mg/l sont déposées à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec un unoculum de la souche à étudier.

L'inhibition de la croissance se traduit par la présence d'une ellipse dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI.

Une échelle de lecture imprimée sur la face supérieure de la bandelette permet une interprétation rapide.

○ Mode opératoire

- Réaliser une suspension bactérienne en faisant passer un écouvillon stérile sur la culture obtenue sur gélose Trypticase soja ou GSC
- Comparer la turbidité obtenue avec celle de l'étalon 0,5 de l'échelle Mac Farland
- Ensemencer la boîte de pétri en stries serrées avec la suspension
- Déposer à la surface de la gélose des bandelettes inertes, calibrées par un gradient de concentrations de l'antibiotique à tester
- Procéder de la même façon avec la souche de référence
- Incuber à l'étuve à 37° C, pendant 18 à 24 heures.

○ Lecture

Après incubation, nous observons que la culture bactérienne est arrêtée lorsque la concentration atteint la CMI. Ainsi nous lisons directement la CMI qui est définie par l'intersection de l'ellipse avec l'échelle imprimée sur la face supérieure de la bandelette.

La lecture reste facile lorsque la zone d'inhibition est symétrique .

Cependant, l'observation d'un décrochage dans la zone d'inhibition impose une lecture par extrapolation de la courbe de l'ellipse.

La présence de colonies doit être analysée. Il peut s'agir d'une résistance hétérogène, de l'émergence de mutants résistants ou d'un mélange bactérien.

L'existence d'une hémolyse sur gélose au sang peut rendre délicate l'estimation de la CMI et ne doit pas interférer avec la lecture.

Une croissance bactérienne en ligne le long de la bandelette n'a aucune signification bactériologique et elle est certainement due à une gélose insuffisamment séchée avant le dépôt de la bandelette.

Les points d'intersection sur la bandelette peuvent être asymétriques et dans ce cas, la CMI correspond à la concentration la plus élevée ayant été lue sur la règle.

Une souche de référence doit être étudiée en parallèle comme contrôle de qualité, afin d'éviter les erreurs d'interprétations.

II-2-2 Méthode de détermination de la sensibilité par antibiogramme standard

○ Principe

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (Müller-Hinton) préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries en phase exponentielle de croissance antibiotique diffuse dans toutes les directions et il se forme un gradient de concentrations à partir de la source (disque).

Après incubation, on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne dont le diamètre est plus ou moins large.

- Mode opératoire

- Préparation de l'inoculum.

- A partir d'une culture de 24 heures sur milieu solide, préparer une suspension d'opacité équivalente à l'échelle 0,5 Mac Farland (10^8 bactéries par ml) dans de l'eau physiologique.

- Préparer ensuite différents inoculas en procédant à des dilutions en fonction de l'espèce recherchée.

- 1/10 pour les Streptocoques et les *Haemophilus*

- 1/100 pour les streptocoques et les Staphylocoques

- 1/1000 pour les Entérobactéries et les *Pseudomonas*

Ensemencement du milieu.

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne pré calibrée.

Au préalable, l'excès de liquide était enlevé par simple pression rotative sur le rebord du tube.

L'écouvillon a été ensuite passé sur toute la surface de la gélose par rotation de 90°.

Il faut assurer une bonne distribution de l'inoculum.

Enfin, les boîtes ont été déposées sur la paillasse pendant 10 minutes de sorte que la surface de la gélose soit complètement sèche lors de l'application des disques.

Application des disques.

Les disques ont été déposées sur la boîte à l'aide de pinces en appuyant légèrement. L'incubation a été faite dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Pour chaque antibiotique, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. L'interprétation se fait à l'aide d'abaques, Diagnostic Pasteur®.

RESULTATS

III/ RESULTATS ET COMMENTAIRES

III-1 REPARTITION DES SOUCHES BACTERIENNES

Nous avons travaillé sur 809 souches isolées d'hémocultures entre Janvier 2000 et Décembre 2003. Parmi celles-ci, les cocci à gram positif ont été les plus représentatives avec 562 espèces (69%). Ce pourcentage concerne aussi bien les staphylocoques (38%) et les streptocoques (31%).

Les bacilles à gram négatif représentent 31% avec 247 espèces.

Parmi ces bacilles à gram négatif nous avons 161 souches d'entérobactéries (20%) ; 30 souches de bacilles non fermentaires (4%) et 56 souches de bacilles fermentaires exigeants (7%).

III-2 EFFECTIF DES SOUCHES BACTERIENNES TESTEES PAR E-TEST

○ Chez les cocci à gram positif

	Nombre	Pourcentage
<i>Staphylococcus aureus</i>	276	57
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	148	31
<i>Streptococcus pyogenes</i>	59	12

- Chez les bacilles à gram négatif

	Nombre	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	102	45
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42	18
<i>Proteus mirabilis</i>	8	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	10
<i>Haemophilus influenzae</i>	55	24

III-3 PROFIL DE SENSIBILITE DES COCCI A GRAM POSITIF AUX BETA-LACTAMINES

Certaines Bêta-lactamines ont été testées sur les souches.

La majorité des souches appartiennent à cette famille de germes qui est très remarquable dans les infections nosocomiales notamment les septicémies. La plupart des souches sont sensibles à ces Bêta-lactamines.

III-3-1 *Staphylococcus aureus*

Tableau X: Profil de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* par E-test.

Code	Antibiotique	Valeurs critiques	Nbre d'isolats	%R	%I	% S	CMI ₅₀	CMI ₉₀
OXA	Oxacilline	S $\leq$ 2 R $\geq$ 4	275	17,8	0	82,2	0,5	48

L'oxacilline testée sur les souches isolées des septicémies à *Staphylococcus aureus* a donné 17,8% de souches méthi R et 82,2% de souches méthi S. Les CMI 50 et 90 vont de 0,5 à 48 µg/ml.

Tableau XI : Profil de sensibilité des souches méthi-R aux autres antibiotiques.

Antibiotiques	% R	% I	% S
Gentamicine	8	2,4	89,6
Clindamycine	26,2	4,8	69
Vancomycine	0	2,2	97,8
Pénicilline G	93,1	0	6,9

III-3-2 *Streptococcus pneumoniae*

L'oxacilline testée en antibiogramme sur les souches de *Streptococcus pneumoniae* a donné les résultats suivants :

sur 101 souches testées , 13,9% ont présenté une sensibilité diminuée à la pénicilline.

PRP = 13,9%

PSP = 86,1%

Tableau XII : Profil de sensibilité des souches de *Streptococcus pneumoniae* par E-test.

Code	Antibiotiques	Valeurs critiques	Nbre d'isolat	% R	%I	%S	CIM ₅₀	CIM ₉₀
AMX	Amoxicilline	$S \leq 2$ $R \geq 8$	148	19,5	0	80,5	0,032	1,5
AMC	Amox/Ac clav	$S \leq 2$ $R \geq 8$	111	12,6	0,9	86,5	0,016	16
CTX	Cefotaxime	$S \leq 0,5$ $R \geq 1$	129	27,9	0	72,1	0,094	16
CRO	Ceftriaxone	$S \leq 0,5$ $R \geq 1$	16	12,5	6,2	81,2	0,023	1,5

Par E-test, les bêta-lactamines testées ont une bonne activité sur les souches de *Streptococcus pneumoniae*. L'amoxicilline et l'association amox + acide clavulanique sont efficaces sur les souches avec des valeurs de CMI₅₀ et ₉₀ allant

respectivement de (0,032 à 1,5) ; (0,016 à 16). Les CMI₅₀ de ceftriaxone et céfotaxime sont 0,023 et 0,094.

III-3-3 *Streptococcus pyogenes*

La pénicilline G testée sur les souches de *Streptococcus pyogenes* est très efficace avec un pourcentage de sensibilité de 98,3%.

III-4 PROFIL DE SENSIBILITE DES BACILLES A GRAM NEGATIF

III-4-1 Les entérobactéries

Cette famille de bactéries reste encore prédominante dans les infections nosocomiales. La plupart des souches sont apparues sensibles aux Bêta-lactamines.

III-4-1-1 *Escherichia coli*

Tableau XIII : Profil de sensibilité des souches de *Escherichia Coli* par E-test.

Code	Antibiotique	Valeurs critiques	Nombre d'isolats	% R	% I	% S	CMI ₅₀	CMI ₉₀
AMC	Amox /ac clav	S≤8 R≥32	26	11,5	23,1	65,4	6	24
CTX	Cefotaxime	S≤8 R≥64	102	2,9	5,9	91,2	0,094	0,5
FOX	Cefoxitine	S≤8 R≥32	5	0	0	100	2	6

Les souches isolées des septicémies à *Escherichia coli* sont tous sensibles aux Bêta-lactamines utilisées. La céfotaxime, la céfoxitine et l'association amoxicilline / acide clavulanique se sont montrées efficaces sur les souches de *Escherichia Coli*. Les valeurs de CMI de la céfotaxime sont basses (0,094 et 0,5).

III-4-1-2 *Klebsiella pneumoniae*

Tableau XIV : Profil de sensibilité des souches de *Klebsiella Pneumoniae* par E-test

Code	Antibiotiques	Valeurs critiques	Nombre d'isolats	%R	%I	%S	CMI ₅₀	CMI ₉₀
AMC	Amox / Ac clav	S≤8 R≥32	42	9,5	9,5	81	3	16
CTX	Cefotaxime	S≤8 R≥64	42	2,4	2,4	95,2	0,064	4
CAZ	Ceftazidime	S≤8 R≥32	2	0	0	100	6	6
CRO	Ceftriaxone	S≤8 R≥64	1	0	0	100	8	8

Pratiquement toutes les souches sont apparues sensibles aux Bêta-lactamines (80 à 100%).

La céfotaxime est efficace sur les souches de *Klebsiella pneumoniae* avec des CMI₅₀ et ₉₀ basses allant de 0,064 à 4µg/ml.

Par antibiogramme l'association Amoxicilline / acide clavulanique et la céftriaxone ont été testées sur les souches de *Klebsiella pneumoniae*. Elles ont donné respectivement 100% de résistance et 100% de sensibilité.

III-4-1-3 *Proteus mirabilis*

Tableau XV : Profil de sensibilité des souches de *Proteus Mirabilis* par E-test

Code	Antibiotiques	Valeurs critiques	Nombre d'isolats	%R	%I	%S	CMI ₅₀	CMI ₉₀
AMC	Amox /Ac clav	S≤8 R≥32	8	25	0	75	1,5	48
CFM	Céfixime	S≤1 R≥ 4	1	100	0	0	32	32
CTX	Céfotaxime	S≤8 R≥ 64	7	0	14,3	85,7	0,032	16

La cefoxitine, la cefotaxime et l'association amoxicilline / acide clavulanique ont été efficace sur les germes avec un taux de sensibilité de (75 à 100%). Les CMI₅₀ de la céfotaxime et de l'association amox + acide clavulanique sont respectivement 0,032 et 1,5 µg/ml.

Par contre la céfixime s'est montrée inefficace avec une résistance totale des germes.

Par antibiogramme, seule la céfoxitine a été testée et a donné 100% de sensibilité.

III-4-2 Bacilles à Gram négatif non fermentaires : *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau XVI : Profil de sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* par E-test

Code	Antibiotique	Valeurs critiques	Nombre d'isolats	%R	%I	%S	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AMC	Amox /Ac clav	S _≤ 8 R _≥ 32	2	0	0	100	1	6
CAZ	Ceftazidime	S _≤ 8 R _≥ 32	22	0	4,5	95,5	3	8
IPM	Imipenem	S _≤ 4 R _≥ 16	21	0	0	100	2	3
TIC	Ticarcilline	S _≤ 64 R _≥ 128	21	52,4	4,8	42,9	96	512
TCC	Ticarcilline/ac clav	S _≤ 64 R _≥ 128	21	47,6	0	52,4	64	512

La ceftazidime et l'imipenem se sont montrés très efficaces sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* (95 à 100%).

La Ticarcilline seule s'est montrée inefficace sur les souches avec une résistance de 52% et une sensibilité de 43%. La valeur de la CMI₅₀ est de 96 µg/ml.

Son association avec l'acide clavulanique a entraîné une inversion des profils de sensibilité avec 47% de résistance et 52% de sensibilité. La CMI₅₀ devient 64µg/ml.

III-4-3 Bacilles à gram négatif fermentaires : *Haemophilus influenzae*

Tableau XVII : Profil de sensibilité des souches d'*Haemophilus influenzae* par E-test.

Code	Antibiotique	Valeurs critiques	Nombre d 'isolats	%R	% I	%S	CIM ₅₀	CMI ₉₀
AMX	Amoxicilline	S _≤ 4 R _≥ 8	10	45	0	55	0,11	171
AMC	Amox / ac clav	S _≤ 4 R _≥ 8	55	10,9	0	89,1	0,38	16
CTX	Cefotaxine	S _≤ 2 R _{>} 4	46	23,9	2,2	73,9	1	16
CRO	Ceftriaxone	S _≤ 2 R _≥ 4	9	0	0	100	0,023	1

Sur 10 souches testées, on a 45% de résistance et 55% de sensibilité à l'amoxicilline avec des valeurs de CMI₉₀ élevées. L'association amoxicilline / acide clavulanique reste acquise sur les souches d'*Haemophilus influenzae* avec des CMI₅₀ et CMI₉₀ allant de 0,38 à 16µg/ml. La céfotaxime et la ceftriaxone inhibent respectivement 73,9% et 100% des souches. Les valeurs respectives des CMI₅₀ et CMI₉₀ sont : (1 à 16) et (0,023 à 1).

DISCUSSION

Dans cette étude, les différents résultats obtenus seront comparés avec ceux obtenus dans d'autres études. Les approches varient d'un service à un autre, d'une région à une autre, d'un pays à un autre.

Ainsi l'analyse des données permettra de connaître le profil de sensibilité des différentes souches bactériennes isolées d'hémoculture, le plus souvent impliquées dans les infections nosocomiales.

I/ SENSIBILITE DES COCCI A GRAM POSITIF

I-1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Les résultats obtenus nous montrent que 93,1% des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline G.

Une étude gabonaise rapportent à peu près les mêmes résultats avec 82,9 % de souches résistantes à la pénicilline G (14).

D'autres publications indiquent également des taux de résistance élevés (71,6 % et 91 %) ou haut niveau de résistance à la pénicilline G (2).

Cette résistance des staphylocoques vis à vis des pénicillines peut s'expliquer surtout par la production de pénicillinase inductible chez ces souches, mais aussi par la modification de leur cible (40).

Staphylocoques et méthicillino-résistance

La résistance à la méthicilline concerne 17,8% des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans notre étude contre 23,9% dans une étude effectuée en 1998. Bismuth et coll. observent des taux de résistance de 18 à 23% avec un retour à 18% en 1980, Soussy et Duval rapportent des fréquences variant entre 40% en 1969 et en

1975 puis 20% en 1982 et Thabaut et coll. 18% avec une diminution à 11% en 1977 et 1979 et à nouveau 18% en 1993 (65).

La fréquence des *Staphylococcus aureus* méthicillino-résistant varie selon l'activité des services, la nature des infections, la politique de prophylaxie et de thérapie antibiotique suivi dans les hôpitaux.

En 2001 où il y avait une résistance de 90 à 95% **ABOSHIKIWA** a trouvé dans ses travaux d'un CHU à Tripoli, une résistance de 28,6% en 2000 (1, 31).

La résistance à l'oxacilline peut être due à une hyperproduction de bêta-lactamases des souches *borsa* (bordeline *Staphylococcus aureus*) qui n'ont pas de résistance intrinsèque.

L'association amoxicilline / acide clavulanique et la céfotaxime ont inhibé respectivement 91,7% et 83,3% des souches. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans une étude de 1992 (35).

Les glycopeptides restent parfois les seuls antibiotiques encore actifs. D'ailleurs on a remarqué que *Staphylococcus aureus* reste sensible aux glycopeptides qu'il soit résistant ou sensible à la méthicilline.

I-2 *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Germe ubiquitaire de transmission interhumaine, non spécifique. Il est responsable de 75% des cas de pneumonie communautaire (33).

La pénicilline G et les aminopénicillines restent parmi les antibiotiques les plus actifs sur les souches de sensibilité intermédiaire qui montrent fréquemment une très haute résistance aux céphalosporines orales (7).

Dans notre étude, le taux de sensibilité diminuée à la pénicilline **G** est de 13,9%. Une étude de Beijing entre 1994 et 1995 a donné 4% de souches résistantes à la pénicilline **G** (28).

De même des travaux menés à Hong Kong ont montré une augmentation de la pénicillino-résistance de 5 à 30 % entre 1991 et 1994. Des études récentes ont montré

un taux de résistance de 38% en 2000 ; 20,93% en 2002 30,4% dans une étude en pays d'Afrique (43).

Une étude multicentrique en France entre 2000 et 2001 a montré une fréquence de 28,3% et 22,7% des souches de *Streptococcus pneumoniae* respectivement intermédiaires et résistantes à la pénicilline (32).

La première description du pneumocoque présentant une sensibilité diminuée aux pénicillines date de 1967 à Sydney.

En 1977, des souches possédant un haut niveau de résistance à la pénicilline **G** et des souches multirésistantes sont décrites dans les méningites en Afrique du Sud. Depuis cette résistance a été signalée dans plusieurs pays (46).

Le mécanisme de résistance n'est pas dû à la production bactérienne de pénicilline, mais à une altération des cibles mêmes de la pénicilline (32).

Il s'agit d'une résistance croisée à toutes les bêta-lactamines mais s'exprime à des niveaux différents selon les molécules.

I-3 STREPTOCOCCUS PYOGENES

La pénicilline **G** s'est montrée efficace dans notre étude avec une fréquence de 98,3% de sensibilité. Ce taux est comparable à celui obtenu dans les travaux d'Edwige avec une sensibilité totale.

Il en est de même à de nombreux pays : Algérie (53), Tunisie (34), Italie (22)...

La pénicilline **G** est la molécule de référence des infections à streptocoques du groupe A.

II/ SENSIBILITE DES ENTEROBACTERIES

II-1 ESCHERICHIA COLI

Les souches semblent généralement sensibles aux produits testés. Toutefois, *Escherichia coli* joue un rôle dans les septicémies mais son pouvoir pathogène est plus marqué dans les infections urinaires communautaires (25).

Les résultats obtenus nous montrent que l'association amoxicilline / acide clavulanique a inhibé 65,4% des souches. L'étude de N. DIA a donné une fréquence de 57 % en 1998.

L'étude de S. Ciss a montré une proportion de souches résistantes de 48 % (20).

Nos travaux confirment une importante diminution de l'activité des aminopénicillines sur les souches de *Escherichia coli*. Les phénotypes montrent que *Escherichia coli* produit une PBN (pénicillinase à bas niveau).

A l'instar des autres bactéries, il est observé l'acquisition de phénomène de résistance dont les mécanismes sont nombreux.

II-2 KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Dans nos travaux, la fréquence de résistance à l'association amoxicilline + acide clavulanique est de 81%. L'étude N. DIA a signalé un taux de 63% en 1998. D'autres études ont montré 13% à Cotonou ; 11,1% en France en 1992 ; 4% en 1994 (26).

Cette tendance pour la résistance aux bêta-lactamines pourrait être expliquée par le fait que les souches sécrèteraient des bêta-lactamases de spectre étendu.

Cette constatation a été faite par une étude de 1983 en Allemagne, en 1984 en Tunisie et en 1985 en France (46).

Cette étude montre que parmi les 9 espèces d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, *Klebsiella pneumoniae* représente 83% des souches.

Nos études ont montré que les céphalosporines testées sont efficaces sur les souches de *Klebsiella pneumoniae*. Contrairement aux études de surveillance menées aux Etats Unis en 1997 avec un taux de résistance de 23,8% des souches et celles de 1998 au Vénézuéla avec 32,9% de résistance (61). Cette résistance est due à une production de BLSE (45).

II-3 PROTEUS MIRABILIS

Les résultats que nous avons obtenus ont montré un taux de sensibilité de 75 % à l'association amoxicilline + acide clavulanique. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par S. Ciss (20).

Les travaux de N. DIA ont montré une inactivité des aminopénicillines et les souches sécrèteraient une bêta-lactamase de bas niveau qui serait inhibée par l'acide clavulanique. Le spectre de cette bêta-lactamase est peu étendu car les souches ont été totalement sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

III/ SENSIBILITE DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Le bacille pyocyanique occupe une place importante dans les septicémies à travers les résultats observés dans notre étude.

Son importance est liée : à sa fréquence, à son pouvoir pathogène potentiel, à sa multirésistance donc à sa morbidité rendant ainsi le pronostic des infections à bacille pyocyanique très sombre (51)

La résistance naturelle de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêta-lactamines est importante et les résistances acquises très fréquentes.

Cette résistance naturelle aux aminopénicillines et aux céphalosporines de la 1^{ère} et 2^{ème} générations est liée à une production d'une céphalosporine inductible couplée à une imperméabilité plus ou moins marquée et d'un système d'efflux actif constitutif. Nos résultats sont comparables à ceux décrits par la littérature.

Nous avons obtenu une sensibilité totale des souches vis à vis de l'association amoxicilline / acide clavulanique ; un taux de résistance de 52,4% à la Ticarcilline. Une étude française en 1992 a donné une fréquence de résistance à la ticarcilline de 29,6% ; cette fréquence est analogue à celle obtenue par N. Dia en 1998 alors que les travaux de S.CISS en 2001 ont donné une sensibilité de 40% vis à vis de la Ticarcilline (20).

Dans ces travaux l'association Ticarcilline / acide clavulanique a modifié les profils avec 100% de sensibilité alors que dans notre étude, cette association n'apporte qu'une légère modification du profil de sensibilité avec 52,4%.

Vis à vis de l'Imipenem, aucune souche de résistance n'a été isolée.

Nos résultats sont comparables à ceux de Mboup M. (50) et de N. DIA en 1998. La sensibilité des souches est restaurée en présence de l'acide clavulanique. La ceftadixime de 3^{ème} génération est active sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ; nos travaux l'ont montré.

IV/ SENSIBILITE D'HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Les souches isolées dans le cadre de notre travail, sont restées généralement sensibles aux bêta-lactamines testées malgré l'émergence de résistance signalée dans la littérature (46).

Ce phénotype de résistance est liée à la production de bêta-lactamases plasmidiques de type TEM qui inactive les aminopénicillines (44). La résistance à l'amoxicilline est de 45%. Ces résultats sont analogues à ceux obtenus lors des travaux de 1998 (26).

L'association amoxicilline / acide clavulanique et les céphalosporines de 3^{ème} génération restent généralement actives et notre étude l'a confirmé de même que l'étude multicentrique entre 2000 – 2001 en France (42).

Ces résultats viennent confirmer les résultats théoriques des études menées par Dagnra, Akoua qui attestent que les souches d'*Haemophilus influenzae* sont sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération.(3, 24).

CONCLUSION

La découverte des Bêta-lactamines a constitué un grand pas dans la lutte contre les maladies infectieuses, notamment dans les infections dites nosocomiales.

C'est ainsi qu'on assiste à l'émergence dans nos structures hospitalières des bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Plusieurs facteurs sont à l'origine de ce phénomène :

- le développement de mécanismes d'adaptation des germes pathogènes à leur environnement ;
- l'émergence d'espèces inhabituellement pathogènes ;
- l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés (infection à VIH, traitement avec les immunodépresseurs) ;
- l'automédication ;
- le non respect des protocoles d'antibiothérapie par le malade et par le clinicien ;
- l'instauration d'un clinicien d'un traitement antibiotique en l'absence probable d'antibiogramme.

Ainsi la surveillance de la résistance bactérienne aux Bêta-lactamines, surtout dans un environnement hospitalier s'avère nécessaire pour mener à bien l'antibiothérapie.

Le microbiologiste doit fournir à chaque instant des informations utiles sur l'état de la résistance bactérienne aux bêta-lactamines au niveau de chaque structure hospitalière .

Dans cette optique, notre étude a porté sur l'analyse du profil de sensibilité de 809 souches bactériennes à l'origine de bactériémie. Elles ont toutes été isolées au Laboratoire de Bactériologie et Virologie du CHU A. Le Dantec entre Janvier 2000 et Décembre 2003.

Parmi les germes isolés l'analyse des données sur la sensibilité des germes aux Bêta-lactamines permet de dégager un certain nombre de constats.

Des souches bactériennes de cocci à Gram positif sont restés sensibles à la majorité des Bêta-lactamines testées.

Cependant nous avons retrouvé *Staphylococcus aureus* fréquemment à l'origine de bactériemies nosocomiales avec un taux de 17,8% de souches méthicillino-résistantes.

Une attention particulière doit être accordée à ce groupe de Staphylocoques méthi-R car ils sont très souvent à l'origine d'épidémies meurtrières surtout dans les services de soins intensifs. Ils apparaissent souvent multirésistants. D'ailleurs la plupart des auteurs consacrent une grande partie de leurs travaux à l'étude phylogénique de cette multirésistance.

Il est cependant important de noter que certains antibiotiques comme la vancomycine constituent un bon recours dans le traitement des infections à Staphylocoques multirésistants. Aucune résistance à la Vancomycine n'a été observé dans notre étude, confirmant les travaux réalisés par d'autres scientifiques.

A côté de ces staphylocoques nous citerons les streptocoques qui constituent une préoccupation majeure du fait de leur implication dans les endocardites et les infections nosocomiales. Si les souches de streptocoques A sont restées sensibles à la pénicilline G, tel n'est pas le cas des autres souches de *Streptococcus pneumoniae* qui ont présentés une sensibilité diminuée à la Pén G de 13,9%. Parmi les streptocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline, l'activité des Bêta-lactamines peut être variable. La pénicilline G et les aminopénicillines restent parmi les antibiotiques les plus actifs sur les souches de sensibilité intermédiaire.

Quant aux germes à Gram négatif connu pour leur rôle prépondérant dans les septicémies nosocomiales à savoir *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* sont apparus sensibles à la plupart des molécules de bêta-lactamines. Cependant *Proteus mirabilis* reste résistant à certaines céphalosporines de 3^{ème} génération.

Pseudomonas aeruginosa est l'un des agents qui occupe une place non négligeable dans nos isollements et à l'origine d'infections nosocomiales et connu

pour sa multirésistance rendant difficile la prise en charge thérapeutique des bactériémies dues à ces agents. Néanmoins certaines molécules de bêta-lactamines non moins coûteuses constituent un recours dans la thérapeutique antipyocynique.

D'autres alternatives ont été proposées, basées sur l'utilisation rationnelle des céphalosporines de 2^{ème} génération telles que la Céfixime ou l'association aminosides-Céfixime dans les infections sévères à pyocyaniques.

C'est pourquoi dans notre souci constant de lutter contre les infections nosocomiales nous avons jugé utile de surveiller de façon rigoureuse l'évolution de la résistance des principaux germes et de participer à la prise en charge des bactériémies tant sur le plan diagnostique que thérapeutique avec comme préalable le renforcement des mesures d'hygiène et de prévention.

A cet effet, les Pharmaciens, les Cliniciens et les bactériologistes doivent travailler en collaboration en confrontant leurs résultats afin d'établir un bon choix pour une antibiothérapie adaptée à l'épidémiologie.

RECOMMANDATIONS

L'analyse de nos résultats nous incite à proposer quelques recommandations au sein des structures sanitaires.

Trois volets peuvent être dégagés :

- **Hygiène-Prévention**

- Sensibilisation du personnel médical et paramédical sur la gravité des infections dues aux germes multirésistants.
- Surveillance des infections nosocomiales dans les unités à haut risque (Ranimation, Chirurgie, Hématologie)
- Actualisation des mesures de prévention efficace
- Renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène.
- Respect des conduites à tenir lors de colonisation ou infection à germes multirésistants.

- **Antibioprophylaxie**

- Prise en compte des schémas codifiés et consensuels liés à plusieurs facteurs (le malade, l'environnement microbien, le site infectieux, le spectre antibactérien et les données pharmacologiques et pharmacodynamiques).
- Réduction du risque infectieux surtout dans un environnement post-opératoire

- **Antibiothérapie**

- Mise à la disposition des structures sanitaires d'antibiotiques pour le traitement de première intention et proposition de solutions alternatives.
- Réduction de l'émergence des souches multirésistantes par la priorité donnée aux antibiotiques à spectre étroit, par rapport aux antibiotiques à large spectre.
- Evaluation de la sensibilité des antibiotiques.

- Détermination des CMI de la pénicilline G et des autres Bêta-lactamines dont les propriétés pharmacologiques sont compatibles avec une efficacité clinique en cas d'infection sévère, d'endocardite.
- Réévaluation du traitement d'antibiotiques en fonction du phénotype de résistance des bactéries isolées
- Proposition d'une antibiothérapie selon le germe présumé
- Analyse des habitudes de prescription des Bêta-lactamines en milieu hospitalier pour le traitement de ces infections.

BIBLIOGRAPHIE

1-ABOSHIWA M. , SAEED D. N. , ELRATHEMI S. , ABU SADIK A.

Microbiology of chronic suppurative otitis media in central hospital-Tripoli.

9th ICID ; Buenos Aires Argentina, April 2000 Abs 95-037 : 216

2-ADESIYUN A. A., LENZ W. , SCHAA L. KP

Phage susceptibility, enterotoxigenicity and antibiograms of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human wounds and diarrhoea

Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. , 1992, 277 (2) : 250-259

**3-AKOUE KOFFI C.; ANGHUI H. ;FAYE KETTE H. ; EHOLIE S.;
TRIMITE M. ; DOSSO M. ; KODIO A.**

Aspects bactériologiques des méningites purulentes au CHU de Youpougon
1995 – 1998

Med. Mal. Infect. 2001, 31 : 475-481

4-AMYESS. G. B.

The success of plasmid encoded resistance genes in clinical bacteria

An examination of plasmid mediated ampicillin and trimethoprim resistances genes
and their resistance mechanisms.

J. Med. Microbiol. ; 1989, 28 : 73-83

5-ARTHUR M. et Al.

Technique d'étude du support génétique de la résistance aux antibiotiques.

L'antibiogramme mpc. Videon, 1^{ère} édition, Paris, 1985 ; 251-305

J. Med. Microbiol., 1989 ; 28 : 73-83

**6-BAKIRL. ; CHOUROU O. ; BOUSLAMA K. ; BENDRIDJ M. ; BEN
SALAH N.**

Profil épidémiologique du *Staphylococcus aureus* en milieu hospitalier et phénotypes
de résistance aux bêta-lactamines

Maghreb Med., 1985, n°333 : 8-10

7-BAQUERO F.

Evolution de la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines en Espagne : un
modèle productif

Med. Mal. Infect., 1994 (24), n°3, 241-246

8-BENBACHIR M., BENREDJEB S., BOYE C. S. et Al.

Two year surveillance of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in four
African cities

Antimicrob. Agents. Chemother., 2001 ; 45 (2) : 627-629

9-BERGER BACHI B.

Genetics of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*

J. Antimicrob. Chemother., 1989 ; 23 : 671-680

10-BERGER BACHI B

Résistance aux bêta-lactamines

Med. Mal. Infect., 1997 (27) n° MAR : 195-206

11-BERGOGNE BEREZIN E.

Bases biologiques de l'antibiothérapie

Masson, Paris, 1998 ; 280p

12-BERT Frederic

Facteurs de risque et traitement des infections à *Staphylococcus aureus* méthicillin-résistant

Press. Med. : (1983) ; 2002, Vol. 31 n°38

13-BINGEN E.

Mécanismes d'action des bêta-lactamines

In « mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule » Roussel, Nice, 1986 ; 7-3016

14-BURCHARD G.D. , WOLFFT

Etude de la sensibilité bactérienne dans un hôpital de Lambaréné (Gabon)

Med. Trop., 1985, Vol. 45, N°3, 265-268

15-BUSH K.

Characterization of bêta-lactamases

Antimicrobs Agents Chemother., 1989 ; 33 : 259-263

16-BRYAN L. E.

Two forms of antimicrobial resistance : bacterial persistence and function resistance

J. Antimicrob. Chemother., 1989 ; 23 : 817-823

17-CHABBERT Y. A.

Actualités pharmacologiques, 26^e série.

Edition de la Tourelle, 1972 ; p32

18- CHABBERT Y. A.

L'antibiogramme : sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques.

Techniques de base, Edition de la Tourelle, Saint-Mandé, 1963 27p

19-CHOPRA I.

Mechanism of resistance to antibiotics and other chemotherapeutic agents.

J. Appl. Bacteriol., 1988, Symposium, Suppl :149-166

20- CISS S.

Bacilles à Gram négatif sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargie, place des infections nosocomiales : intérêt des inhibiteurs de bêta-lactamases et de nouvelles molécules

Thèse Pharm., Dakar, 2001 n°108

21-CLEGBAZA Francisco S.

Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae et Moraxella catarrhalis dans les infections respiratoires basses communautaires à Dakar. Isolement bactérien et sensibilité aux antibiotiques.

Thèse Pharm., Dakar, 2000 n°81

22-CORNAGLIA G. , LIGOZZI M., MAZZARIOL A et Al

Rapid increase of resistance to erythromycine and clindamycin in *Streptococcus pyogenes* in Italy ; 1993-1995.

The Italian Surveillance Group for Antimicrobial Resistance.

Emerg. Infect. Dis. 1996, 2, 4 : 339 – 42

23-DABERNAT H., SEGUY M., FAUCON G., DELMAS C.

Epidémiologie et évaluation de sensibilité aux bêta-lactamines des souches de *Haemophilus influenzae* isolées en 2001 en France

Med. Mal. Infect., 2004 , Vol. 34, n°2 : 97-101

24-DAGNRA A. Y.. TI GOSSON S. ; PRINCIPE DAVID M.

Prévalence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des méningites.

Méd. Mal. Infect., 2000 ; 30 291 – 294

25-DELARBRE JM., GRASMICK CP., COUMENGES P et Al

Sensibilité aux antibiotiques *Escherichia coli* isolé d'hémocultures et d'exams cytobactériologiques des urines dans 15 hôpitaux généraux du Sud-Ouest de la France

Med. Mal. Infect. 1994 ; 24 *Special* : 535-8

26-DIA N.

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémocultures au CHU Aristide le Dantec

Thèse Pharm., Dakar, 1998, n°55

27-DIAKITE M.

Etude de la sensibilité par E-test de souches de bacilles à Gram négatif isolées au CHU de Dakar

Thèse Pharm., Dakar , 1998 n° 69

28-DIALLO O. KALSOM

Evaluation des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines et aminosides de souches dakaroises de Staphylocoques et streptocoques

Thèse Pharm. , Dakar, 1993, n° 60

29-DIAW EL H. M.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques par E-tests des souches de cocci isolées au
CHU A.Le Dantec

Thèse Pharm. 1999 n°76

**30-DINGA- BOUDJOUMBA S., BATABOUKILA-MABOULOU P.,
OLEMBE O. B.**

Résistance aux antibiotiques de 1368 souches de staphylocoque pathogène isolées
à Brazzaville

Med. Afr.Noire, 1993 , Vol. 42 n°8-9 ; : 436-439

31-DIOUF D. M.

Etude bactériologique des otites moyennes chroniques au CHU A.Le Dantec
Dakar

Thèse Pharm., Dakar, 2001, n° 34

32-DRUGEON H.B., JUVIN M. E. , BENSALA A., MONIOT-VILLE N.

Sensibilité des trois principaux pathogènes respiratoires aux bêta-lactamines en
France en 2000-2001 : résultats d'une étude multicentrique.

Antibiotiques : Paris., 2002, Vol., n°3 : 193-196

33-E. PILLY

APPJT Bêta-lactamines

Med. Mal. Infect ; 1996 : 50-59

34-El BOUR M., FENDRI C. , Ben HASSEN A. et Al.

Study of antibiotic sensibility of *Streptococcus pyogenes* isolated in an hospital
milieu (Charles Nicolle Hospital of Tunis)

Med., Trop . 1993 ; 53 (1) : 13-7

35-FALL M. I.

Comportement vis à vis des antibiotiques de 94 souches de *Staphylococcus aureus* isolées en situation pathogène au CHU de Fann : Sensibilité aux antibiotiques , sécrétion pénicillinases, résistance hétérogène.

Thèse Pharm., Dakar 1992, N° 83

36-FONTANA R.

Penicillin binding proteins and intrinsic resistance to beta-lactame in Gram positive cocci

J. Antimicrob. Chemother. , 1985 ; 412-415

37-FONKOUA M. C., CUNIN P., SORLIN P., MUSI J., MARTIN P. M. V.

Les méningites d'étiologie bactérienne à Yaoundé (Cameroun) en 1999-2000

Bulletin de la société de pathologie exotique, 2001, Vol. 94 n°4 : 300-303

38-GARRABE F., CAVALLO J.D. , BRISOU P., CHAPALAIN J. C.,

COUE J. C., COURRIER P., GRANIC G., HERVE V. , KOECK J. L.

Sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'infections nosocomiales : Evolution dans les services de réanimation des hôpitaux des armées.

Presse med. (1983)., 2000, Vol 29 n°27 ; 1497-1503

39-GESLIN P., FREMAUX A., SISSIA G.

Streptococcus pneumoniae : Etat actuel de la sensibilité aux bêta-lactamines en France.

Mise au point du centre national de référence

Med.Mal.Infect. 1991 ; Vol 21, 4bis : 3-11

40-GUT MANN L., GOLDSTEIN F.

Staphylocoques et bêta-lactamines

Antibiogramme MPC : Vidéom, Paris, 1^{ère} Edition 1985 : 23-28

41-HARTMAN B. J. , TOMASEA.

Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*.

Antimicrob Agents Chemother, 1986 ; 29 : 85-92

42-HERIODIAS N. D. H.

Détermination de la sensibilité des souches d'*Haemophilus influenzae* par E-test et étude de la variation de la sensibilité à l'association amoxicilline / acide clavulanique

Thèse pharm. , Dakar, 1996, n°56

43-HOUNKPONOU E.

Etude comparée de l'identification et de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes* isolés d'infections humaines (données prospections à Dakar)

Thèse Pharm., Dakar, 2003 n°42

44-JEHL F.; CHOMARAT M.; WEBER M. ;GERARD A.

De l'antibiogramme à la prescription

Ed Biomérieux 2^{ème} Ed. 2003 : 22 p

**45-JONES R. N., PFALLER M.A., DOERN G.V., ERWIN M.E.,
HOLLIS R. J.**

Antimicrobial activity and spectrum investigation of eight broad spectrum Bêta-lactam drugs : a 1997 surveillance trial in 102 medical centers in the united states.

Diagn. Microbial. Infect. Dis., 30 ; 215-28

46-JUPEAU- VESSIERES

Evolution de la résistance aux antibiotiques

Editions techniques Engl. Med. Chir. (Paris-France)

Mal. Infect., 8-006-0-10, 1994,16p

47-KASSE.C

Sensibilité aux antibiotiques des souches de Streptocoques isolées au CHU de Dakar

Thèse Pharm. Dakar , 1992 n°94

48-KOUMARE B et BOUGOUDOGO F.

Résistance aux antibiotiques de 2187 souches bactériennes isolées au Mali entre 1980 et 1991

Med. Mal. Infect. 1993, 23 : 367-9

49-LE MINOR L., VERON N.

Bactériologie médicale, 2^e édition

Flammarion, Médecine Sciences, Paris, 1989, 331-381, 773-828

50-MBOUP E. M.

Sensibilité des bacilles à Gram positif au CHU de FANN Dakar.

Thèse Pharm. Dakar, 1996. n° 75

51- MICHEL BRIAND Y.

Infections à bacilles pyocyaniques

Ed. techniques Encycl. Med. Chir. (Paris France)

Mal. Infect., 8 – 025 – B - 50, 1993, 14p

52- MOREL C.

Les antibiotiques, mécanismes d'actions, antibiorésistance et son exploration au
Laboratoire

CAEN : U. E. R., 1973 18p

53-MOREILLON P., WENGER A., CALDELARI I.

Résistance aux antibiotiques chez les pneumocoques

Rev. med. Suisse Romande., 2000, Vol. 120, 8 : 651-59

54-NAIT-KACI S., BOUKARANA W., RAHAL K.

Sensitivity to beta-lactams and macrolides of *Streptococcus pyogenes* isolated at
the services from 1994 to 1998.

Arch. Inst. Pasteur Alger. 1998 ; 62 : 13-23

**55-NATIONAL COMITEE FOR CLINICAL LABORATORY
STANDARDS (NCCLS)**

Approved standard M2-14 : performances standards for antimicrobial
susceptibility tests (normes de performances des tests de sensibilité
anti-microbiennes)

4th Ed., Villa nova, PA : NCCLS, 1990

56-NDIAYE N. F.

Phénotypes de résistance et de virulence de différentes souches de staphylocoques
isolées au CHU de Dakar

Thèse Pharm. Dakar, 1993. n°54

57-NDIAYE Y. K.

Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance par sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi, de souches à bacilles à Gram négatifs au CHU de Dakar

Thèse Pharm. Dakar, 1992. n° 95

58-NDONG K. N.

Etude de la résistance bactérienne selon le produit pathologique au CHU de FANN (2000-2001).

Thèse Pharm. Dakar, 2002 n° 32

59- NOUHOFF C., DELME E. M., STUELEUS M. J. S.

Multicenter Survey of Escherichia coli resistant to ciprofloxacin analysis of clonal diversity on Gylase Mutation

In CMI 8th European Congress of Clinical Microbiology and infectious diseases
May 25,28-1997 p732

60-NIKAIDO M., VAARA M.

Molecular basis of bacterial outer membrane permeability

Microbiol., Rev., 1985 ; 49 : 1-3

61-PFALLER M. A., JONES R. N., DOERN G. V.

Multicenter evaluation of the antimicrobial activity for six broad spectrum Béta-lactams in Venezuela using the E-test method

Diagn. Microbial. Infect. Dis. , 1998, 30, 45-52

62-PHILLIPON A., PAUL G., NEVOT P.

Bêta-lactamases incidences et intérêts cliniques

Rean Soins .Intens. Med. Urg., 1987 ; 3 : 229-33

63-PIDDOCK L. J. V., WISE R.

Newer mechanism of resistance to Béta-lactam antibiotics in Gram negative bacteria
J. Antimicrob. ,Chemother, 1985 ; 16 : 279-284

64-REINER R.

Antibiotics : an introduction , edition « Roche », Sc Service, Basle, 1982

65-REVERDY M. E. , BES M. , BRUN Y. , FLEURETTE J.

Evolution de la résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques de souches hospitalières de Staphylococcus aureus isolées de 1980 à 1991.

Pathol. Biol. 1993 ; 41 n°9 : 897 - 904

66-ROLINSON G. N.

Bêta-lactamase induction and resistance to Béta-lactam antibioques
J. Antimicrob. Chemother, 1989 ; 23-1-5

67- SIROT J.

« Résistance enzymatique des bacilles à Gram négatifs aux céphalosporines de 3^e génération ». *In Med. Mal. Infect.*, 1989 ; hors série : Octobre 24-30

RESUME

En trois ans, 809 souches bactériennes ont été isolées d'hémocultures au CHU A. Le Dantec par le laboratoire de Bactériologie -virologie. Ces souches sont en général sensibles à la majorité des Bêta-lactamines testées.

Parmi celles-ci, les staphylocoques comme *staphylococcus aureus* fréquemment à l'origine de bactériémies nosocomiales ont donné un taux de 17,8% de souches méthicillino-résistantes. Certaines d'entre elles sont productrices de Bêta-lactamases plasmidiques. La Vancomycine reste l'Antibiotique de choix pour ce groupe de staphylocoques.

Quant aux germes à gram négatif, certains entérobactéries produisent des Bêta-lactamases à spectre étendu, cela explique leur résistance à certaines céphalosporines de 3^e génération.

Pseudomonas aeruginosa résiste naturellement aux aminopénicillines et aux céphalosporines de 1^{er} et 2^e génération par sa production de céphalosporinase inductible couplée à une imperméabilité. C'est pourquoi, nous avons proposé des alternatives basées sur l'utilisation rationnelle de l'association aminosides-céfixime dans les infections sévères à pyocyaniques.