

De tout temps l'apparition des phénomènes de résistance aux antibiotiques a constitué un problème important pour l'ensemble des cliniciens. On a observé que les infections de cocci à Gram positif (streptocoques, staphylocoques) occupent toujours une place de choix dans les infections communautaires et nosocomiales.

Alors, la connaissance de la sensibilité aux antibiotiques devient indispensable au choix thérapeutique. La surveillance de cette sensibilité devient une étape essentielle dans la lutte contre les infections acquises à l'hôpital.

Ce parce que l'utilisation intensive et déraisonnée des antibiotiques entraîne la sélection de souches résistantes. De plus, malgré la mise en place de politiques d'utilisation de médicaments essentiels dans bon nombre de pays, les fréquences d'isolement des phénotypes de résistance ne cessent de s'accroître en milieu hospitalier.

On a jugé donc nécessaire de faire une évaluation de l'écologie bactérienne et de l'état de la résistance aux antibiotiques des principaux cocci à Gram positif isolés à l'hôpital Aristide Le Dantec d'Octobre 2004 à Mai 2005.

La première partie de notre étude est consacrée à des rappels sur les grandes familles d'antibiotiques, leur mécanisme d'action et la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Dans la deuxième partie, nous nous proposons d'apprécier le niveau de résistance des cocci à Gram positif et de décrire la sensibilité aux antibiotiques de souches de cocci à Gram positif au niveau du service de bactériologie-virologie, ce dans le but de proposer des schémas thérapeutiques adéquats dans la prévention et le traitement des infections.

I. CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES :

La classification repose sur leur mécanisme d'action et leur structure chimique, lesquels conditionnent leur spectre d'activité (24, 56, 61).

Nous insisterons ici sur la classification basée sur leur mécanisme d'action.

I.1 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DU PEPTIDOGLYCANE :

Les antibiotiques agissant spécifiquement sur la paroi auront une grande sélectivité et seront dépourvus d'effet sur les cellules animales.

La paroi bactérienne est essentiellement constituée par le peptidoglycane. Celui-ci lui confère une rigidité ou une résistance physique lui permettant de faire face aux différentes agressions. C'est un hétéropolymère dont la composition est la suivante (32, 46) :

- Chaîne polysaccharidique faite d'une alternance de N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique.
- Chaînes térapeptidiques (contenant de la L-alanine, D-alanine, acide D-glutamique et de la lysine ou de l'acide diaminopimélique) branchés sur l'acide N-acétyl- muramique.

➤ **La fosfomycine :**

Elle inhibe la pyruvyl-transférase par conséquent la combinaison du phosphoénol-pyruvate avec l'UDP N-acétyl glycosamine .

➤ **La D-cyclosérine :**

Elle inhibe de façon compétitive l'alanine racémase et la D-alanyl-D-alanyl synthétase empêchant ainsi la formation de l'UDP N-acétyl muramyl-pentapeptide.

➤ **La bacitracine :**

C'est un antibiotique polypeptidique actif sur les bactéries gram positif. Elle se combine au lipide transporteur des nucléotides précurseurs de la synthèse du peptidoglycane (26, 37).

➤ **La vancomycine :**

C'est un antibiotique polypeptidique à spectre étroit, actif sur les cocci à Gram positif ; elle forme un complexe avec l'extrémité D-ala-D-ala du N-acétyl-muramyl-pentapeptide empêchant la fixation de ce dernier sur la chaîne de peptidoglycane en formation (32,37).

➤ **La Ristocétine et la teicoplanine :**

Elles sont très proches de la Vancomycine.

➤ **Les bêta-lactamines :**

C'est une famille très prolifique d'antibiotiques dont le premier représentant la pénicilline G est à la base de l'antibiothérapie.

La structure du noyau de base comporte toujours le cycle Bêta-lactame.

Les antibiotiques appartenant à cette famille sont répartis en trois groupes :

- Pénams-Carbapénems-Oxapénams.
- Céphems-Oxacéphems.
- Monobactams.

Les Bêta-lactamines inhibent la dernière étape de synthèse du peptidoglycane notamment la transpeptidation par analogie structurale avec le dipeptide D-ala-D-ala.

Les cibles des Bêta-lactamines sont des protéines insérées sur la face externe de la membrane cytoplasmique.

Leur nombre varie selon l'espèce bactérienne.

Les Bêta-lactamines ont habituellement un effet bactéricide qui résulte sauf exception, d'une lyse bactérienne consécutive à l'activation des enzymes autolytiques de la bactérie (32).

I.2 ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LES MEMBRANES

Il peut s'agir de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif ou de la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif.

Ces antibiotiques désorganisent la membrane en se combinant avec notamment les phospholipides qui les constituent.

Il s'agit :

- des Polymixines
 - Polymyxine B
 - Polymyxine E (colistine)
- des Gramicidines et Tyrocidines.

I.3 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS

DES SYNTHÈSES PROTÉIQUES

✓ **Macrolides – Lincosamines – Streptogramines :**

Ils se fixent également sur la fraction Ribosomale 50s. Ils interfèrent avec la formation des complexes initiaux destinés à former la chaîne peptidique et inhibent les réactions de translocation, c'est-à-dire le passage de l'acide aminé de l'ARN à la chaîne protéique en formation.

✓ **Aminosides:**

Les aminoglycosides exercent plusieurs actions sur les cellules bactériennes : altération de la membrane cellulaire, perturbation du métabolisme de l'ARN, inhibition de l'oxydation de différents substrats. La première étape consiste en la fixation de l'aminoglycoside sur un récepteur spécifique de la sous-unité 30s d'un ribosome bactérien. Puis l'antibiotique va bloquer l'activité normale du « complexe d'initiation » de la synthèse peptidique.

✓ **Les Tétracyclines :**

Ces antibiotiques vont se fixer sur la fraction 30s d'un ribosome microbien et bloquer la synthèse protéique en empêchant la fixation d'un complexe « amino-aci+ ARN » sur le complexe ARNm-Ribosome. Ils peuvent aussi se fixer en faible proportion aux protéines de la sous-unité 50s (18, 26).

✓ **Chloramphénicol :**

Il se fixe sur la fraction ribosomale 50s, et possède la priorité d'inhiber la peptidyl-transférase. Il en résulte une puissante inhibition de la transpeptidation, c'est-à-dire de l'accrochage des aminoacides à la chaîne protéique en formation, inhibant ainsi toute synthèse.

✓ **Acides fusidiques :**

Il agit sur la synthèse protéique en inhibant le facteur d'élongation G (translocase) bloquant ainsi la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous-unité 50s du ribosome (29).

I.4 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DES ACIDES NUCLEIQUES

♦ **Rifamycines :**

Les rifamycines sont les seuls antibiotiques de la famille des ausamycines utilisés en thérapeutique . Deux produits sont utilisés :

- La Rifamycine S.V.
- La Rifampicine

Les Rifamycines se fixent sur l'ARN polymérase ADN dépendante (transcriptase) des bactéries et bloquent la synthèse de l'ARNm au stade d'initiation.

♦ **Quinolones :**

Les produits récents de cette famille sont particulièrement intéressants parce qu'ils élargissent le spectre d'activité vers les cocci à Gram positif notamment à l'image de l'acide nalidixique, ils inhibent la synthèse de l'ADN par le blocage de l'activité de la sous-unité alpha de l'ADN gyrase.

♦ **Novobiocine :**

Elle inhibe la régulation de l'ADN en empêchant la fixation de l'ATP sur la sous-unité B de l'ADN gyrase.

♦ **Nitro-Imidazolés :**

Leur activité passe par une réduction *in vitro* de leur groupement nitro (-NO₂). Ils se fixent sur l'ADN au niveau des régions riches en adénine et thymine, provoquant des coupures de brins et un déroulement de l'ADN.

♦ Nitrofurane :

Ces antibiotiques de synthèses ont un spectre très large mais *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia* et *Acinetobacter* sont résistants.

Leur action nécessite également la réduction du groupement nitro. Ils réagissent de façon électrostatique sur l'ADN provoquant ainsi des coupures et des substitutions de bases.

I .5 ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DES FOLATES

Contrairement aux mammifères qui peuvent synthétiser de *novo* les folates, les bactéries à l'exception d'*Enterococcus faecalis* n'assimilent pas les folates exogènes.

♦ Sulfamides :

Les sulfamides inhibent de façon compétitive la dihydroptéroate synthétase en raison de leur analogie de structure avec celle du PAB.

♦ Les 2, 4 - diaminopyrimidines :

Ils agissent par inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes. Il faut environ 50.000 fois leur concentration thérapeutique pour perturber la DHF réductase de l'hôte.

♦ Association sulfamide-diaminopyrimidine :

A l'image du Cotrimoxazole, ces associations sont souvent synergiques et bactéricides si la souche est sensible aux deux composés.

♦ **Autres Antifoliques :**

- Les sulfones : les sulfones sont des analogues structuraux de l'acide para-aminobenzoïque et des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase.
- L'acide para amino – Salicylique (PAS) : C'est un antituberculeux mineur analogue structural du PAB.

I. 6 ANTIBIOTIQUES ANTITUBERCULEUX

Plusieurs produits sont utilisés. L'Isoniazide, la Rifampicine, la Streptomycine, et la Pyrazinamide sont des bactéricides tandis que l'éthambutol et la thiosemicarbazone sont bactériostiques.

II. MECANISMES DE RESISTANCE ET PHENOTYPES DE RESISTANCE :

II.1 DEFINITION

II.1.1 Notion de résistance :

On appelle spectre d'activité d'un antibiotique 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 impliquent 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 (60).
- 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* (60).

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 ce antibiotique (6).

II.1.2 Types de résistance :

II.1.2.1 Résistance naturelle :

C'est un caractère d'espèce, présent chez toutes les souches bactériennes, déterminé génétiquement (par exemple inefficacité de la benzylpénicilline sur le *Pseudomonas aeruginosa*). Cette résistance apparaît dans les premières études de l'activité antibactérienne d'un nouvel antibiotique et participe à la détermination du spectre antibactérien d'une nouvelle molécule. On peut également citer la résistance des *Staphylococcus aureus* et *Entérobactéries* aux bêta-lactamines (Pénicilline G, Ampicillines et céphalosporines) (18).

II.1.2.2 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 (13). 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 (13).

II.1.2.3 Résistance clinique :

Elle se traduit par l'échec thérapeutique. Plusieurs facteurs entrent en cause dans ce type de résistance.

- Facteurs environnementaux (cations, protéines inhibitrices etc...)
- La pharmacocinétique
- Le choix judicieux de l'antibiotique
- Les mécanismes développés par les bactéries

II.1.3 Support génétique :

Au plan génétique, la résistance acquise peut survenir par mutation ponctuelle, par remaniement du génome ou par acquisition de matériel génétique étranger.

Il existe deux supports essentiels.

II.1.3.1 Résistance chromosomique :

- **Résistance chromosomique par mutation :**

Il peut s'agir d'une mutation ponctuelle dans un gène de résistance entraînant par exemple une hypersécrétion d'enzyme inactivant les antibiotiques ou dans un gène de structure qui modifie le spectre d'une enzyme. Une mutation se caractérise par :

- ✓ la rareté
- ✓ la spontanéité
- ✓ La discontinuité
- ✓ la spécificité et l'indépendance
- ✓ la stabilité

- **Résistance chromosomique par remaniement**

Il peut s'agir d'un remaniement du génome ; à titre d'exemple de l'insertion de séquences apportant un promoteur permettant d'exprimer des gènes silencieux ou alors de l'acquisition de fragments de chromosomes étrangers par transformation.

II.1.3.2 Résistance extra chromosomique :

L'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries par conjugaison, par transduction ou par transformation (64) . L'ensemble de ces gènes peut être sur des fragments d'ADN appelés transposons qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans le chromosome en allant de l'un à l'autre.

II.1.4 Phénotypes de résistance :

C'est un groupe, un ensemble d'antibiotiques permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger des mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment, mais pas exclusivement de son équipement enzymatique.

Au sein de chaque espèce, on distingue le phénotype sauvage ou sensible, déterminé par les mécanismes naturels de résistance et les phénotypes résistants déterminés par de mécanismes acquis de résistance (52).

II.2 MECANISME DE RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES (8)

Il existe plusieurs mécanismes par lesquels les micro-organismes peuvent exprimer une résistance aux antibiotiques.

- **Production d'enzymes capables de réduire le médicament actif**

C'est le cas des staphylocoques résistants à la pénicilline G par production de **Bêta-lactamase** capable d'hydrolyser le cycle Bêta-lactame. De même, certaines bactéries à Gram négatif sont résistantes aux aminoglycosides par production d'enzymes capables de réaliser des acétylations ou des phosphorylations aboutissant à la destruction de la molécule. La production d'acétyltransférases par certaines bactéries à Gram négatif est à l'origine de leur résistance au chloramphénicol.

- **Modification de la perméabilité bactérienne à l'antibiotique**

Par exemple, on observe dans les souches résistantes aux tétracyclines une diminution de l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique, par interruption du passage, à travers la membrane cellulaire. Certains gonocoques deviennent résistants à la Benzylpénicilline, par diminution de la perméabilité membranaire. La résistance à l'Amikacine et à certaines autres aminoglycosides est en partie due à une modification des transports actifs à travers la membrane cellulaire.

- **Altération de la structure du site de fixation bactérienne de l'antibiotique.**

Il existe parfois une résistance aux aminoglycosides due à la perte ou à l'altération d'une protéine spécifique de la sous-unité 30s des ribosomes bactériens, qui constitue le site récepteur de ces antibiotiques dans les souches sensibles. De même pour l'Erythromycine c'est le récepteur de la sous-unité ribosomale 50s qui est altéré par la méthylation.

- **Développement d'une voie métabolique annexe permettant de faire sauter l'inhibition due à l'antibiotique**

certaines bactéries résistantes aux sulfamides acquièrent la capacité d'utiliser directement l'acide folique (comme les cellules animales)et nécessitent plus l'utilisation du PABA extra cellulaire (point d'impact des sulfamides).

- **Production d'une Enzyme capable d'assurer les fonctions métaboliques inhibées par l'antibiotique mais n'étant que peu affectée par celui-ci**

C'est le cas de certaines bactéries sulfamides résistantes où la déhydroptéroate synthétase a plus d'affinité pour le PABA que pour le sulfamide, alors que c'est le phénomène inverse qui prédomine chez les bactéries sensibles.

II.2.1 Résistance aux Bêta-lactamines

II.2.1.1 Mécanisme d'action des Bêta-lactamines

Les Bêta-lactamines (Pénicillines et céphalosporines) sont des inhibiteurs sélectifs de la synthèse de la paroi bactérienne grâce à leur ressemblance structurale avec les acides aminés sur lesquels agit la transpeptidase. Ils se fixent sur cet enzyme et inhibent son action, empêchant ainsi la formation des ponts rigides (18).

II.2.1.2 Mécanismes de résistance aux bêta-actamines

II.2.1.2.1 Résistance par production d'enzymes

La production d'enzymes capables d'inactiver les bêta-lactamines demeure le mécanisme de résistance le plus largement distribué parmi les nombreuses espèces bactériennes (60).

- Les bêta-lactamases :

Les bêta-lactamases sont des enzymes d'inactivation du cycle bêta-lactame. La découverte dès 1940 d'extraits bruts de bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*) inactivant la benzylpénicilline montre l'existence d'un mécanisme de résistance par synthèse de « pénicilline ».

Le terme bêta-lactamase n'a été proposé qu'en 1960. La pénicillinase de *Staphylococcus aureus* sera mise en évidence dès 1944. Après, l'émergence de la résistance enzymatique ne devrait plus s'arrêter.

La diversité des bêta-lactamases oblige à une identification de plus en plus précise permettant une meilleure classification. Plusieurs classifications des bêta-lactamases ont été proposées ; selon les propriétés physico-chimiques, la nature de leurs inhibiteurs , leur localisation génétique (plasmide ou chromosome), leurs hôtes habituels, la séquence nucléotidique de leurs gènes ou leur composition en acides aminés, leurs localisations bactériennes (exocellulaire ou périplasmique) (5, 12, 71).

La classification la plus utilisée est celle de RICHMOND et SYKES (10) Schématiquement, les bêta-lactamases peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases.

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 (constitutive) sauf celle de *Staphylococcus aureus*.

Il existe une très grande variété de pénicillinases : TEM, SHV, OXA, PSE. Elles peuvent être spécifiques à un genre (pénicillinase de *Staphylococcus aureus*) ou largement distribuées. L'enzyme de type TEM est retrouvée chez les Entérobactéries, les *Haemophilus*, les *Neisseria*, les *Pasterella*, les *Pseudomonas*. Elle inactive les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les ureidopénicillines. En cas de production importante de ce type d'enzyme, les céphalosporines de première génération et certaines céphalosporines de deuxième génération peuvent être hydrolysées (64).

Ces bêta-lactamases sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases comme l'acide clavulanique, le tazobactam (64). Une augmentation importante de la production de bêta-lactamases peut aussi être responsable de la résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases. Sous la pression de sélection de ces inhibiteurs, des dérivés de TEM porteurs de mutations ponctuelles et possédant une faible affinité pour les inhibiteurs de bêta-lactamases sont apparues depuis 1989. Ces bêta-lactamases résistantes aux inhibiteurs de bêta-lactamases sont appelées IRT (Inhibitor résistant TEM) (64).

Comme les enzymes IRT, les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) dérivent par mutations ponctuelles de bêta-lactamases déjà connues, essentiellement TEM ou SHV. L'apparition de ces BLSE date de 1983. Les BLSE peuvent être retrouvées chez toutes les *Entérobactéries* mais plus particulièrement chez *Klebsiella pneumoniae*. Leur particularité est d'hydrolyser les

céphalosporines de troisième génération et l’Aztréonam mais elles ne touchent ni les céphamycines (Céfotétam, Céfoxitine, Latamoxef) ni les carbapénèmes (64). Elles sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases.

Les céphalosporinases. :

Elles sont généralement chromosomiques et inductibles. Leur production peut cependant devenir constitutive chez *Serratia spp*, les *Enterobacter spp*, les *Citrobacter*, les *Proteus* indole plus, les *Pseudomonas* et d’autres organismes comme les *Acinetobacter*.

Les céphalosporines codées par un gène appelé AmpC, hydrolysent préférentiellement les céphalosporines plutôt que les pénicillines. A l’état basal, ces céphalosporinases touchent essentiellement les céphalosporines de première génération.

La résistance naturelle vis à vis de la céfoxitine est la conséquence de l’induction très importante de la céphalosporinase par cet antibiotique. La production normalement inductible de ces céphalosporinases est sous le contrôle de différents gènes qui, s’ils sont mutés, vont aboutir à une hyperproduction spontanée de niveaux variables de la céphalosporinase. Une fois hyperproduites, elles peuvent hydrolyser les céphalosporines de troisième génération et entraîner la résistance à ces antibiotiques.

Actuellement 20 % des *Entérobacter* produisent constitutivement une céphalosporinase et sont résistants aux céphalosporines de troisième génération.

Depuis 1990, des céphalosporinases codées par des gènes plasmidiques ont été décrites. Parmi celles-ci, MIR-1, BIL-1 et CMY-2 (64).

Certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* de *Serratia marcescens*, d’*Enterobacter* et de *bacteroides fragilis* peuvent produire une carbapénémase, généralement chromosomique, hydrolysant les carbapénèmes (imipénème et méropénème (64).

Les Estérases :

Les enzymes amino coupent la chaîne latérale des céphalosporines les rendant inactifs.

Les Amidases (38) :

Elles hydrolysent la chaîne latérale des beta-lactamines et libèrent l'acide amino-7 céphalosporamique dans le cas des céphalosporines et l'acide-6 pénicillanique dans le cas de pénicillines.

II.2.1.2.2 Résistance non Enzymatique **aux Bêta-lactamines (38)**

Les mécanismes de résistance non enzymatiques aux bêta-lactamines s'opposent aux mécanismes de résistance enzymatiques liées à la production de bêta-lactamases. Ils sont différents chez les bactéries à Gram positif ou négatif.

► Résistance non enzymatiques chez les bactéries à Gram positif :

Chez les bactéries à Gram positif c'est la modification des PLP qui représente le mécanisme principal de la résistance non enzymatique (40).

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 (47).

Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrées (tableau I) :

- La diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les Bêta-lactamines : Dans ce cas, l'affinité est diminuée pour toutes les bêta-lactamines mais de manière inégale selon les molécules. Une telle modification a été démontrée avec la PLP-1 de *Clostridium perfringens*,

modification qui s'accompagne d'une augmentation d'un facteur 100 de la CMI pour la pénicilline et d'un facteur 10000 pour la Céfotaxime (14).

- L'augmentation de la quantité de PLP : Ce mécanisme a été bien étudié chez *Enterococcus faecium*. On a démontré que la PLP-5 présente en faible quantité dans les souches sensibles, augmente quantitativement d'un facteur 10 à 20 dans les souches résistantes et peut s'accompagner d'une diminution d'affinité pour les bêta-lactamines. Cette PLP prend la fonction de PLP essentielle par rapport aux autres.
- Acquisition d'une nouvelle PLP qui va prendre le rôle de PLP essentielle. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline (40,45).

La résistance aux bêta-lactamines par modification de ce PLP est croisée pour toutes les Bêta-lactamines.

► **Résistance non enzymatiques chez les bactéries à Gram négatif** (tableau II)

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

- Le rôle de la perméabilité dans la résistance des bactéries à Gram négatif aux Bêta-lactamines.

Contrairement aux bactéries à Gram positif où les peptidoglycanes ne représentent pas une barrière pour la diffusion des Bêta-lactamines, il existe au dessus du peptidoglycane une barrière de diffusion liée à la présence de la membrane externe (69).

Chez les bactéries à Gram négatif, 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.

C'est chez *Escherichia coli* que la relation entre les porines et les bêta-lactamines a été le mieux étudié (51).

Deux types de porines sont présentes chez *Escherichia coli* OmpC et OmpF. Chez les mutants OmpC-, la pénétration des Bêta-lactamines n'est pas diminuée car le diamètre de la porine OmpF est suffisamment large. Au contraire l'absence de OmpF s'accompagne d'une résistance à la Céfoxitime ($4 \times$ la CMI) sans modification de la CMI pour la Céfalozone.

Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel des Bêta-lactamines à travers la porine OmpF car plus large. Quant aux mutants OmpC-, OmpF- ; leur CMI est augmentée d'une manière très importante.

Des résultats variables ont été obtenues pour les céphalosporines de troisième génération (22, 72) avec généralement une faible augmentation plus marquée pour le moxalactam ($10-100 \times$ la CMI).

Tableau I : Résistances liées à des modifications de PLP chez des bactéries à Gram positif (32)

	Espèce
Diminution d'affinité pour les Bêta-lactamines	<i>C. perfringens</i> <i>S. pyogenes</i>
Augmentation de la quantité d'une PLP essentielle	<i>Entérocoques</i>
Acquisition d'une nouvelle PLP	<i>S. aureus</i>
Multiples modifications	<i>S. pneumoniae</i>

Tableau II: Mécanismes de résistance non enzymatiques aux Bêta-lactamines chez les bactéries à Gram négatif (32)

Modification de porines ou de protéines de la membrane externe	- <i>Enterobacteries</i> (<i>E. coli</i>, <i>P. mirabilis</i>, <i>K.pneumoniae</i>, <i>E. cloacae</i>) - <i>Pseudomonas</i> - <i>Haemophilus</i> - <i>Gonocoques</i>
Modification des PLP	- <i>E. coli</i> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Haemophilus</i> - <i>Gonocoques</i>
Modification du LPS	- <i>Pseudomonas</i>

Ce mécanisme de résistance a été rapporté dans d'autres espèces : les *salmonelles*, les *Klebsielles*, les *erratia* et les *Enterobacter* (11, 38, 43, 69, 72, 78). TRIAS et NIKOIDS ont montré l'existence chez les *Pseudomonas* d'une porine (porine D2) responsable du transport spécifique des carbapénèmes et dont l'absence ou la fermeture explique la résistance isolée à l'imipénème non croisée aux autres Bêta-lactamines ou aux autres antibiotiques hydrophiles.

Le 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. L'altération des PLP n'a été que rarement démontré chez les bactéries à Gram négatif (21, 65, 78).

Le rôle des PBP dans la résistance bactérienne intrinsèque a été mis en évidence chez des mutants de *Escherichia coli* qui avait une résistance augmentée au mécillinaam et à l'imipénem due à une diminution de l'affinité des PLP-2 pour ces antibiotiques alors que les mutations touchant la PLP-3 s'accompagnaient d'une résistance vis à vis des céphalosporines (78).

► **Autres mécanismes de résistances aux Bêta-lactamines :**

- Altération du LPS

La modification de la composition du LPS soit dans le polysaccharide, soit dans la core semble être un des mécanismes possibles et fréquents de la résistance non enzymatique des *Pseudomonas* aux Bêta-lactamines (42).

- Tolérance bactérienne

Une bactérie est dite tolérante lorsque, ayant conservé la même sensibilité (même CMI) vis à vis d'un antibiotique bactéricide, il existe une augmentation considérable de la CMB avec un rapport CMB/CMI supérieur à 32. L'effet bactériostatique persiste alors que l'effet bactéricide de l'antibiotique a disparu. L'absence d'activation du système lytique normalement activé par l'antibiotique explique ce phénomène. Ce phénomène est surtout marqué pour les Bêta-lactamines vis à vis des *streptocoques*.

- Persistance bactérienne

On observe une persistance du germe *in vivo* en présence de l'antibiotique. Ceci s'explique par une perte ou une diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène avec comme conséquence une modification du métabolisme bactérien. Ce phénomène a été observé avec les bêta-lactamines mais également avec les autres antibiotiques.

II.2.2. Résistance aux aminosides

II.2.2.1 Mécanisme d'action des aminosides :

Les aminoglycosides sont des composés structurellement apparentés contenant trois hexoses liés. Ils exercent un effet bactéricides en se liant de façon irréversible à la sous unité 30 s des ribosomes bactériens et en bloquant ainsi le déclenchement de la synthèse protéique. La fixation des aminoglycosides sur la membrane cellulaire bactérienne et leur pénétration dans la cellule à travers la membrane constituent un processus aérobie requérant de l'énergie. Ainsi, l'activité des aminoglycosides est très diminuée dans un environnement anaérobie. La Spectinomycine, un antibiotique aminocyclitol, agit également sur la sous unité ribosomique 30s, mais elle a un mécanisme d'action différent de celui des aminoglycosides car elle est bactériostatique plutôt que bactériocide (46).

II.2.2.2 Mécanisme de Résistance (32) :

Trois mécanismes sont impliqués dans la résistance aux aminosides chez les *Entérocoques* :

- altération de la cible ribosomale
- modification du transport de l'antibiotique
- détoxification enzymatique de l'antibiotique

II.2.2.2.1 Altération de la cible :

Le changement d'un seul acide aminé dans une protéine ribosomale entraîne une diminution de l'affinité du ribosome pour un antibiotique. Ces mutants résistants ne constituent pas un problème en thérapeutique, ils sont rares en clinique et impliquent pour la plupart des aminosides, des mutations multiples pour atteindre un haut niveau de résistance.

Et enfin, du fait de l'absence de chevauchement des sites de fixation de divers aminosides sur les ribosomes, ils ne présentent pas une résistance croisée envers les autres membres de la famille.

II.2.2.2.2 Modification du transport de l'antibiotique :

La pénétration des aminosides dans les bactéries est un phénomène :

- de diffusion passive au travers des porines de la membrane externe.
- de transport actif requérant de l'énergie au niveau de la membrane interne .

Les CMI sont faiblement augmentées et ce type de résistance est de détection délicate. Les mutations qui affectent le système actif de transport entraînent une diminution de l'accumulation d'antibiotique dans la cellule.

II.2.2.2.3 Détoxification Enzymatique

des antibiotiques :

La modification Enzymatique des aminosides médiée par les plasmides constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le plus fréquemment rencontré en clinique c'est ce troisième mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'*Entérocoque* qui est responsable de l'apparition de souches hautement résistantes aux aminosides (19, 20, 34, 39, 41, 48, 49, 55, 63, 64, 75, 79).

Ces enzymes, classées en trois catégories en fonction de la réaction qu'elles catalysent (nucléotidation, phosphorylation ou acétylation) sont nommées en fonction de leurs substrats. Ainsi chez *Enterococcus faecalis* l'enzyme ANT (4) (Aminoside nucléotidy-transfère) induit une résistance à la Streptomycine ; APH (3') (Aminoside phosphotransfère) se traduit par une résistance à la Kanamycine, à la Nétilmicine et à l'Amikacine, l'ANT (4') induit une résistance à la Kanamycine, à l'Amikacine et à la Tobramycine alors que l'enzyme bifonctionnelle APH (2') – AAC (6') détoxifie la Kanamycine, l'Amikacine, la Nétilmicine, la Tobramycine et la Gentamicine (34, 41, 55, 63, 64).

Ces trois classes d'enzymes sont de ce fait à la base des phénotypes de résistance aux aminosides des *Streptocoques* et *Entérocoques*.

Aussi le **tableau I** (73), donne les différents types d'enzymes modificatrices et leurs substrats alors que BISMUTH (8) a résumé au **tableau II** les phénotypes de résistances des différentes espèces de *Streptocoques* et a sa suite B.A.S (3) a commenté leur corrélation avec la résistance aux bêta-lactamines chez *Enterococcus faecalis* (8).

II.2.3 Résistance bactérienne aux macrolides, lincosamines, streptogramines :

II.2.3.1 : Mécanisme d'action :

Les macrolides inhibent la synthèse protéique ARN dépendant du site P de la sous unité 50s du ribosome (50). Il semble que ce soit les étapes de translocation et de transpeptidation au niveau du site P qui sont inhibées .

Les lincosamines se fixent également au niveau du site P ; leur action serait plus précoce que celle des macrolides notamment l'inhibition de la fixation de l'aminocyl-t-ARN au site accepteur ainsi que la formation de liaison peptidique .

Les deux composés de streptogramines entraînent chacun isolément une bactériostase par blocage réversible de la synthèse protéique.

L'effet synergique obtenue par mélange des composés A et B entraîne une bactériocidie. Le facteur A dont le mécanisme est plus élucidé semble inhiber le peptidyl-transférase.

II.2.3.2 Mécanisme de Résistance :

II.2.3.2.1 Résistance Intrinsèque :

Cette résistance est liée à une imperméabilité naturelle de la membrane externe. Elle est surtout retrouvée chez les bactéries Gram négatif. Les Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* résistent naturellement aux macrolides.

II.2.3.2.2 Résistance acquise :

- Modification de la cible

Les souches résistantes produisent une méthylène responsable de la diméthylation d'une adénine dans l'ARN 23s de la sous unité ribosomale 50s (62, 70). La résistance ainsi conférée est croisée entre Macrolides, Lincosamines et Streptogramines B (MLSB). Ce phénotype de résistance peut être inductible ou constitutif notamment chez les staphylocoques. Il est médié par des gènes appelés ERM portés par les plasmides ou les transposons situés sur le chromosome (64).

Si la résistance est inductible, il y a dissociation entre l'activité des Macrolides en C₁₄ (Erythromycine) et celle des autres, des Lincosamides, Streptogramines. Si elle est constitutive, la souche est résistante à l'ensemble des Macrolides, des Lincosamides et au seul facteur B des Streptogramines (70). Le facteur A reste actif et la synergie entre les deux facteurs est conservée.

- Inactivation Enzymatique :

Ici la résistance n'est croisée que lorsque les différentes molécules sont chimiquement apparentées. Ce sont soit des estérases ou des phosphotransférases pour les Macrolides ,soit des nucléotidyltransférases pour les Lincosamines, soit enfin une acyltransférase pour la Streptogramine A et une hydrolase pour la Streptogramine B (64).

- Efflux actif :

Ce mécanisme décrit chez les staphylocoques est médié par un gène plasmidique (50). Les différents mécanismes de résistance aux Macrolides chez les staphylocoques sont rapportés dans le tableau ci-après.

Tableau III : Type de résistance aux MLS chez les staphylocoques (50):

Mécanisme	Génotypes	Ery	Oleo	Lin	Clin	SB	SA	SA + SB
Modification du cible (ribosome)	Erm(1)	R	S / R	S	S	S	S	S
	Erm (2)	R	R	R	R	R	R	S
Inactivation de l'antibiotique	LipA Is	S	S	R	S	S	S	S
	Sca-sbn	S	S	I	I	S	R	I/R
		S	S	S / I	S / I	R	R	R
Efflux Actif	Erp A(3)	R	R	S	S	S	S	S
	Mrs A	R	R	S	S	R	S	ND

S : Sensible

I : résistance intermédiaire

R : Résistance

s : Sensibilité diminuée

(1) : Résistance inductible

(2) : Résistance constitutive

(3) : Chez les staphylocoques à coagulase (-) seulement

Lin : Lincosamine

ND : Non déterminé

Clin : Clindamycine

Ery : Erythromycine

Oléo : Oléoandromycine

SB : Composant B des streptocoques

SA : Composant A des streptocoques

SA+ SB : Streptocoques

II.2.4 Résistance aux Tétracyclines :

II.2.4.1 Mécanisme d'action :

Les Tétracyclines (Tétracyclines, Doxycyclines, Minocyclines) ont quatre cycles aromatiques et des groupements substitués divers. Elles interagissent de façon réversible avec la sous-unité ribosomique bactérienne 30s, bloquant la liaison du résidu aminoacyl de l'ARNt, au complexe ARNm-ribosome.

Ce mécanisme est très différent de celui des aminoglycosides qui se lient à la sous-unité 30s. La spécificité des Tétracyclines pour les ribosomes bactériens est due à la fois à leur sélectivité pour les ribosomes bactériens et à la nécessité d'un transport actif dans la cellule bactérienne assuré par un système de la membrane cellulaire des mammifères (46).

II.2.4.2 Mécanisme de résistance :

Le mécanisme de résistance à la Tétracycline le plus fréquent chez les bactéries à Gram négatif fait intervenir une pompe d'Efflux actif codée par un plasmide, insérée dans la membrane cytoplasmique qui expulse l'antibiotique hors de la cellule. La résistance des bactéries à Gram positif est due soit à un efflux actif, soit à des altérations ribosomiques qui diminuent la liaison de l'antibiotique à sa cible. Les gènes impliqués dans la protection ribosomique sont situés sur des éléments génétiques mobiles (46).

II.2.5 Résistance aux glycopeptides :

II.2.5.1 Mécanisme d'action :

Les glycopeptides (Vancomycine, Teicoplanine) sont des antibiotiques à poids moléculaire élevés qui se lient aux composants D-alanine-D-alanine terminal du térapeptide quand les sous-unités sont déjà extérieures à la membrane cellulaire mais encore liées au transporteur liquide. Cette liaison inhibe par encombrement stérique l'addition de sous-unités aux chaînes polysaccharidique (46).

II.2.5.2 Mécanisme de résistance :

Le principal mécanisme de résistance semble être la réduction de l'accès de la Vancomycine à sa cible situé dans le cytoplasme cellulaire qui est le résidu terminal D-alanyl-D-alanine du pentapeptide L-ala.D-glu-L-lys-D-ala-D-ala porté par le disaccharide N-acétylmiramyl-N-acétylglucosamine ; précurseur du peptidoglycane. La fixation des glycopeptides sur le résidu D-ala -D-ala du disaccharide inhibe la synthèse du peptidoglycane et la multiplication cellulaire. Les glycopeptides se fixent également au cours de leur traversée de la paroi sur les résidus D-ala-D-ala restés disponibles dans la structure du peptidoglycane, avec comme seule conséquence une interférence avec les réactions de transpeptidation catalysées par les PLP (4).

II.2.6 Résistance aux Sulfamides et aux

Triméthopprime :

II.2.6.1 Mécanisme d'action des Sulfamides et

Trimethoprimes :

Le mécanisme d'action des sulfamides est fondé sur l'inhibition de la synthèse par la bactérie de l'acide folique nécessaire à l'édification de ses bases puriques et pyrimidiques (et donc de son ADN) ; la membrane bactérienne étant imperméable à l'acide folique (à la différence des cellules hôtes pour qui l'acide folique, ou vitamine B₉ est un apport extérieur) la bactérie doit en effet édifier son acide folique à partir de ses trois constituants élémentaires :

- Acide para-amino benzoïque(acide PABA)
- Acide glutamique
- Ptéridine

Dans une étape ultérieure, l'acide folique doit être réduit en tétrahydrofolate par une dihydrofolate réductase : cette dernière Enzyme peut être inhibée par le Triméthopprime et la Pyriméthamine dont l'effet inhibiteur complémentaire explique donc sa parfaite synergie d'action avec les sulfamides (18).

II.2.6.2 Mécanisme des résistances :

Le principal mécanisme de résistance au Triméthopprime et aux Sulfamides chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif est l'acquisition de gènes plasmidiques codant une nouvelle cible insensible à ces médicaments,

spécifiquement une hydrofolate réductase insensible au Triméthoprim et une dihydroptéroate synthétase altérée insensible aux Sulfamides (46).

II.2.7 Résistance aux Fluoroquinolones :

II.2.7.1 Mécanisme d'action :

Les Quinolones dont l'Acide nalidixique et ses dérivés fluorés (Norfloxacin, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Lévofoxacin, Sparfloxacin, Grépafoxacin et Trofloxacin) sont des composés synthétiques inhibant l'activité de la sous-unité A de l'ADN gyrase bactérienne ainsi que celle de la topo-isomérase IV. L'ADN gyrase et la topo-isomérase sont des enzymes responsables du super enroulement négatif de l'ADN, conformation essentielle à la réplication de l'ADN dans la cellule intacte. L'inhibition de l'activité de l'ADN gyrase et de la topo-isomérase est mortelle pour la cellule bactérienne.

II.2.7.2 Mécanisme de la résistance (80) :

La résistance aux Quinolones survient uniquement par mutation chromosomique et deux types de mutations sont classiques : celles, survenant dans les gènes de structures (gyr A et gyr B) de l'ADN gyrase, topo-isomérase bactérienne qui est une cible intracellulaire des Quinolones et celles conduisant à un défaut d'accumulation de l'antibiotique. Les mutations gyr A sont les plus fréquemment impliquées dans la résistance des souches cliniques que les mutations gyr B. Une donnée récente est que la résistance peut aussi être liée à la survenue de mutations dans les gènes de structure (parC et parE) codant pour une seconde topo-isomérase bactérienne, l'ADN topo-isomérase IV. Chez la bactérie à Gram négatif

(Entérobactéries, *Haemophilus influenzae*), ce dernier mécanisme semble jouer un rôle secondaire : l'expression d'une mutation dans les gènes est conditionnée par la présence préalable d'une mutation dans le gène *gyr A* ; la gyrase est la cible primaire, mais la survenue d'une mutation dans les gènes *parC* ou *parE* chez une souche déjà résistante par mutation dans le gène *gyr A* confère un niveau de résistance plus élevé chez *Staphylococcus aureus*, au contraire, la cible primaire est cette fois la topo-isomérase IV. Les mutations dans le gène *gyr A* ne confèrent une résistance qu'en cas de présence préalable d'une mutation dans le gène *parC*.

Enfin chez les *Streptococcus pneumoniae* et *Mycoplasma hominis*, la cible primaire varie en fonction de la Fluoroquinolone considérée.

II.2.8 Méthicillino résistance (ou oxacilline et dérivés) :

C'est en 1960 que les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la Méthicilline (SARM) ont été observées en Angleterre (32).

La résistance à la Méthicilline relève de deux mécanismes différents qui peuvent être associés : une anomalie d'une ou plusieurs protéines liant la pénicilline (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane et l'hyper production de bêta-lactamase.

La résistance vraie à la Méthicilline est dite intrinsèque car d'origine chromosomique. Elle est homogène et le plus souvent de haut niveau avec une CMI de l'Oxacilline > 4 mg/l, ou hétérogène et dans ce cas décelée au laboratoire par l'utilisation d'un milieu hypersalé, une température d'incubation de 30°C, une durée d'incubation de 48h ou un inoculum élevé ; elle est due chez *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* à la production d'une PLP anormale. PLP2a ou 2', de faible affinité pour l'Oxacilline.

Chez certaines souches, elle est due à des PLP normales mais d'affinité diminuée pour les Bêta-lactamines. La résistance intrinsèque à l'Oxacilline est considérée comme croisée avec l'ensemble des Bêta-lactamines. La moindre affinité de la PLP 2a pour l'Oxacilline n'est cependant pas identique pour toutes les bêta-lactamines. La résistance intrinsèque à la Meticilline est souvent associée à une résistance à plusieurs antibiotiques (principalement Aminoglycosides, Macrolides et Fluoroquinolones) ; par des mécanismes différents : production d'enzymes, modification de cibles, diminution de perméabilité. La quasi totalité des souches méti-R sont résistantes à tous les Aminoglycosides. La résistance à la Gentamicine et à la Tobramycine doit faire considérer la souche résistante à la Netilmicine et à l'Amikacine, quel- que soit le résultat de l'antibiogramme en raison du mécanisme enzymatique commun de résistance.

La plupart des souches de staphylocoques méti-R sont résistantes à l'Erythromycine aux Lincosamides et à la Streptogramine B, résistance dite MLSB (7).

I. MATERIEL ET METHODES

I.1 MATERIEL

I.1.1 Cadre de l'étude

Le laboratoire de bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec de Dakar nous a servi de cadre pour effectuer cette étude sur la sensibilité aux antibiotiques de souches de cocci à Gram positif (*staphylocoques*, *streptocoques*) isolées à Dakar .

Cette étude s'est déroulée d'octobre 2004 à Mai 2005.

I.1.2 Matériel et réactifs

I.1.2.1 Les souches bactériennes

I.1.2.1.1 Souches à tester

Notre étude a porté sur un ensemble de 719 souches bactériennes isolées et identifiées selon les méthodes classiques d'isolement et d'identification au laboratoire de bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec .

- AntibioGramme

Les espèces bactériennes sur lesquelles nous avons travaillé sont :

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus auricularis*
- *Staphylococcus epidermidis*

- *Staphylococcus haemolyticus*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus sp*
- *Staphylococcus warneri*
- *Staphylococcus xylosus*

Ces souches proviennent de produits pathologiques divers :

- Urines
- hémoculture.
- Pus
- Prélèvements vaginaux
- LCR
- Coproculture

Toutes les souches testées ont été conservées à -70°C dans des cryotubes (NUNCr) contenant du bouillon cœur-cerveille (BCC) additionné de glycérol en trois exemplaires sur trois portoirs différents .

- E-test

Les souches sur lesquelles nous avons travaillées sont au nombre de 481 réparties comme suit : *Staphylococcus aureus* 276, *Streptococcus pneumoniae* 159 et *Streptococcus pyogenes* 46.

Ces souches proviennent de produits pathologiques divers (voir antibiogramme).

I.1.2.1.2 Souches de référence

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

Les souches de référence recommandées sont les suivantes

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49610
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212

I.1.2.2 Matériel pour antibiogramme en milieu gélosé

- Milieu gélosé de MH
- Milieu de base pour GSO/GSC + Gentamicine
- Souches de référence
- Pincés
- Générateurs de CO₂ + jarre
- Ecouvillons
- Bec Bunsen
- Tubes à essai
- Pipettes et micropipettes
- Embouts
- Boîtes de Pétri
- Etuves à 37°C
- Anse de platine
- Tubes à vis

- Pipettes Pasteur
- Sang de cheval
- Eau physiologique
- Coffret étalon Mac Farland (Biomérieux)

Tableau IV: Les antibiotiques à tester en fonction des souches

ANTIBIOTIQUES	SIGLES	SOUCHES
Pénicilline	PEN	Staphylocoques, Streptocoques
Oxacilline	OXA	Staphylocoques, Streptocoques
Céfotaxime	CTX	Staphylocoques, Streptocoques
Amoxicilline	AMX	Staphylocoques, Streptocoques
Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	Staphylocoques, Streptocoques
Céftriaxone	CRO	Staphylocoques, Streptocoques
Céfixime	CFM	Staphylocoques, Streptocoques
Céftazidime	CAZ	Staphylocoques
Pristinamycine	PRI	Staphylocoques
Gentamicine	GEN	Staphylocoques, Streptocoques
Chloromphénicol	CHL	Streptocoques
Sulfaméthoxazole + Triméthoprime	SXT	Staphylocoques, Streptocoques
Tétracycline	TCY	Staphylocoques
Erythromycine	ERY	Staphylocoques, Streptocoques
Spiramycine	SPI	Staphylocoques
Clindamycine	CLIN	Staphylocoques, Streptocoques
Ciprofloxacine	CIP	Staphylocoques, Streptocoques
Vancomycine	VAN	Staphylocoques, Streptocoques
Rifampicine	RIF	Staphylocoques, Streptocoques
Lévofloxacine	LVX	Staphylocoques, Streptocoques
Clarithromycine	CLR	Streptocoques

I.1.1.2.3 Matériel pour l'étude de la sensibilité par E-test

Cette étude a nécessité le matériel suivant :

- Appicateurs
- Tubes à hémolyse stériles
- Cassette pour la sélection d'antibiotiques
- Bandes adhésives
- Paires de ciseaux
- Tubes de stockage et dessiccateurs
- Ecouvillons stériles
- Autoclave
- Pincés
- pH mètre
- Echelles Mac Farland
- Boites de Pétri 150 à 190 mm
- Guide de lecture E-test et nouvelles normes NCCLS.

I.1.2.4 Matériel pour la conservation

Nous avons utilisé pour cela des cryotubes type Nuncr, des portoirs, des bandes adhésives, un réfrigérateur à 70°C.

I.1.2.5 Matériel pour l'exploitation des résultats

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

I.1.2.6 Matériel pour la recherche de la Méthicillino-résistance

- Gélose MH à 5% de NaCl
- Boîtes de Pétri
- Disques d'oxacilline
- Eau physiologique
- Tubes à hémolyse
- Oxacilline base (SIGMA)
- Etuve à 37°C
- Coffret étalon Mac Farland (BIOMERIEUX)

I.2 METHODES

I.2.1 Méthodes d'études de la sensibilité aux antibiotiques

I.2.1.1- Principe

L'antibiogramme a été effectué sur :

- milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH), pour les staphylocoques.
- milieu gélosé de Mueller-Hinton à 5% de sang de cheval (GSO) pour les streptocoques.

Il s'agit d'une méthode analytique qui permet de définir l'activité *in vitro* d'un agent antimicrobien sur un germe.

I.2.1.2 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 inocula en procédant à des dilutions en fonction de l'espèce recherchée :

1/10 pour les streptocoques

1/100 pour les streptocoques et les staphylocoques

I.2.1.3 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° 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.

I.2.1.4 Application des disques

Les disques ont été déposés 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.

I.2.1.5 Lecture et interprétation

Pour chaque antibiotique, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré à l'aide d'un pied de coulisse. L'interprétation a été faite à l'aide d'abaques diagnostiques Pasteur.

I.2.2 Méthode d'étude de la sensibilité par E-test

I.2.2.1 Principe

Le système E-test consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient de concentration d'antibiotique couvrant 15 dilutions. Les concentrations prédéfinies sont immobilisées à la face opposée à l'échelle et représentent les valeurs de CMI. C'est une technique simple, fiable et la CMI est précise et reproductible .

I.2.2.2 Préparation de l'inoculum

- Utiliser des colonies viables pour préparer l'inoculum,
- Homogénéiser individuellement les colonies viables de 24 à 48 heures dans une solution convenable de NaCl à 8,5g %.
- Ajuster la turbidité de la suspension à 0,5 Mac Farland en déterminant la densité optique au spectrophotomètre comparativement à celle du témoin.

I.2.2.3 Inoculation

La méthode d'ensemencement du milieu, préconisée par le NCCLS est la méthode par écouvillonnage ou méthode **KIRBY-BAUER**.

- Ensemencer sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose d'une épaisseur de 4 + ou - 0,5 mm..
- S'assurer que la surface gélosée est bien sèche avant de procéder à l'écouvillonnage .
- Plonger un écouvillon dans l'inoculum , bien essorer l'écouvillon sur les bords du tube, écouvillonner entièrement la surface de la gélose dans trois directions différentes.
- Laisser sécher à la température ambiante environ une quinzaine de minutes.

I.2.2.4 Application des bandes

- il faut s'assurer que la surface de la géloseensemencée est entièrement sèche ;
- avec l'applicateur, déposer la bande de e-test sur la gélose ;
- il faut toujours appliquer la bande en mettant l'échelle de la CMI face à l'ouverture de la boîte. il ne faut pas la mettre à l'envers ;
- assurer un bon contact entre la bande et la gélose en appuyant sur la bande en partant de la base ;
- il ne faut jamais déplacer la bande après application, car l'antibiotique diffuse immédiatement après le contact dans la gélose.

I.2.2.5 Incubation

Le temps et l'atmosphère d'incubation dépendent du germe à tester .

I.2.2.6 Lecture

Les boîtes sont lues après la période d'incubation recommandée , à condition d'avoir une croissance significative à la surface de la gélose et que l'ellipse d'inhibition soit clairement visible.

La CMI est lue au point d'intersection de l'ellipse et de la bande.

La lecture ne présente pas de difficulté lorsque la zone d'inhibition est parfaitement définie et symétrique . Dans les autres cas une interprétation est nécessaire :

- L'observation d'un décrochage ou « **dip** » dans la zone de lecture impose de lire la CMI en extrapolant la courbe de l'ellipse.
- La présence de colonies « **squatter** » doit être analysée ; il peut s'agir d'une résistance hétérogène , de l'émergence de mutants résistants ou de mélange bactériens.
- 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.
- La présence d'une croissance bactérienne en ligne le long de la bandelette n'a pas de signification bactériologique et est certainement due à une gélose insuffisamment séchée avant le dépôt de la bandelette .
- Les points d'intersection sur la bandelette peuvent être asymétriques : la CMI correspond à la concentration la plus haute lue sur la règle .

Dans tous les cas, les souches de référence doivent être étudiées en parallèle comme contrôle de qualité afin de valider le test et aussi d'éviter les erreurs. Il faut lire en premier les résultats des souches de référence.

I.2.2.7 Contrôle de qualité

Outre l'utilisation des souches de références pour valider le test , les contrôles de qualité doivent s'effectuer à tous les niveaux :

➤ **Les souches de référence**

Un certain nombre de règles doivent être respectées ;

- utiliser des souches de référence sûres, type ATCC ;
- entretenir correctement les souches de contrôle de qualité .

Pour cela les conserver selon deux méthodes, soit en stock de culture pour l'utilisation fréquente des souches, soit à -70°C dans des cryotubes pour une conservation longue durée . Quarante exemplaires sont établis pour chaque souche de contrôle répartis sur deux portoirs différents , conservés à -70°C (freezer)

➤ **Milieu et réactifs**

Pour assurer une bonne qualité des résultats il faut :

- vérifier les dates de péremption des milieux et réactifs ;
- un stockage correcte des milieux de culture , des bandes de E- test avec un relevé quotidien de la température du freezer et du frigo;
- une manipulation correcte avec respect de la démarche du protocole établi ;
- une sélection correcte de la terminaison en pointe de la CMI ;
- un contrôle de la gélose : c'est à dire de la profondeur, de la capacité de croissance à supporter, de la présence d'antagoniste tels la thymidine la thymine et des ions.

I.2.3 Détection de la bêta-lactamase à spectre étroit

1.2.3.1 Méthode iodométrique

- **Principe**

C'est une méthode enzymatique décrite par PERRET en 1954. Le principe repose sur la combinaison de l'acide provenant de l'attaque de la pénicilline G avec l'iode d'un complexe lugol-amidon .En présence de bêta-lactamase, l'amidon reste libre donc incolore . En présence de l'attaque de pénicilline, l'amidon se combine avec l'iode et donne une coloration bleue.

- **Mode opératoire**

- 0,1 ml de la solution de pénicilline G a été introduit dans autant de tubes à hémolyse que de souches à tester ;
- une suspension dense de la souche à tester a été faite dans cette solution de pénicilline G ;
- le mélange a été bien agité et laissé à la température du laboratoire pendant 30 minutes ;
- deux gouttes d'amidon ont été ajoutées dans chaque tube ;
- après addition d'une goutte de solution d'iode, une coloration bleue à bleu-violet a été observée ;
- Enfin une rotation a été imprimée au mélange pendant une minute. une décoloration au bout de dix minutes indique une production de bêta-lactamase.

I.2.3.2 Méthode à la céphalosporine chromogène

- **Principe**

C'est une méthode à la céfinase . Cette méthode chromogénique repose sur le changement de couleur de certaines céphalosporines en solution aqueuse , lorsque les liaisons bêta-lactames sont rompues par l'action des bêta-lactamases. Le réactif céfinase est constitué par des disques de papier stérile imprégnés de céphalosporine chromogène : la nitrocéfine.

Celle-ci a prouvé son efficacité dans la détection rapide des bêta-lactamases y compris celles produites par les staphylocoques .

- **Mode opératoire**

Le disque déposé sur une lame porte-objet a été imbibé d'eau distillée . Des colonies ont été prélevées avec une pipette Pasteur et étalées sur le disque. Une réaction positive se traduit par un changement de coloration du disque de nitrocéfine du jaune au rouge-violet au niveau de l'étalement .

I.2.4 Détection de méthicillino-résistance

- **Principe**

Staphylococcus aureus,, résistant aux pénicillines G et A par production de pénicillinase, est généralement sensible aux pénicillines M (méthicilline, oxacilline) et aux céphalosporines .

Cependant, certaines présentent une résistance intrinsèque à ces antibiotiques. Pour détecter cette dernière, il est conseillé de tester la résistance à l'oxacilline qui est plus stable que la méthicilline.

- **Mode opératoire**

Technique de la diffusion sur gélose

Pour favoriser l'expression de la méthicillinorésistance, un disque d'oxacilline a été placé sur une boîte de gélose MH. Dans ce cas, une préparation d'inoculum faite à partir de la culture et d'eau physiologique a été coulée en nappe et avant dépôt du disque d'oxacilline. L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 heures.

L'expression de la résistance hétérogène est matérialisée par la présence de colonies plus ou moins nombreuses à l'intérieur du cercle d'inhibition.

En pratique, sur l'antibiogramme il n'est de tester qu'un seul disque : l'oxacilline.

La résistance hétérogène s'exprime mal avec les disques de céphalosporines, il est donc inutile de les tester.

Technique de dilution en milieu gélose (screening)

En cas de doute sur la mise en évidence de la résistance intrinsèque par l'antibiogramme, il est intéressant d'employer la technique de dilution en gélose.

Cette technique consistait à préparer un inoculum dense (de turbidité équivalent à 0,5 Mac Farland) dans de l'eau physiologique à partir d'une culture de 24 heures.

Un ensemencement par spot a été effectué sur la gélose MH contenant de l'oxacilline (6mg /l).

Après une incubation à 30°C pendant 24 heures , une souche présentant une résistance hétérogène pousse au niveau du point d'inoculation.

- **Interprétation des résultats**

Staphylococcus aureus

- la pénicilline répond pour les amino- , les carboxy- et les acyluréidopénicillines.
- l'oxacilline répond pour les quatre bêta-lactamines . Les phénotypes impossibles sont :
 - . Méthi R Pénicilline S : il ne s'agit pas d'une souche de ***Staphylococcus aureus*** ;
 - . Méthi R Céfotaxime S : sachant que pour ***Staphylococcus aureus***, la résistance à la méthicilline est croisée à celle des bêta-lactamines.

II. RESULTATS ET COMMENTAIRE

II.1 REPARTITIONS DES SOUCHES

BACTERIENNES ISOLEES

Au total 719 souches bactériennes constituées par 10 espèces ont été retenues. Un ensemble d'antibiotiques a servi à les tester. L'ensemble des souches a été testé par la méthode de l'antibiogramme standard et 660 par la méthode E-test.

Les souches ont été isolées aussi bien des malades hospitalisés que des patients externes et ont concerné 368 souches de Staphylocoques et 351 souches de Streptocoques.

Tableau V: Répartition des souches de Staphylocoques en fonction des espèces

ESPECE	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Staphylococcus aureus</i>	309	83 , 9
<i>Staphylococcus auricularis</i>	9	2,5
<i>Staphylococcus xylosus</i>	7	2
<i>Staphylococcus warneri</i>	19	5,15
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	2,5
<i>Staphylococcus saprotyticus</i>	12	3,2
<i>Staphylococcus. sp</i>	1	0,27
TOTAL	368	100%

Tableau VI: Répartition des souches de Streptocoques en fonction de l'espèce

ESPECE	NOMBRES	POURCENTAGE
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	259	73,8%
<i>Streptococcus bêta-hemolytique A</i>	92	26,2%
TOTAL	351	100%

Tableau VII: Répartition des staphylocoques en fonction de la production de coagulase

ESPECE	PRODUCTION DE COAGULASE
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Staphylococcus auricularis</i>	-
<i>Staphylococcus xylosus</i>	-
<i>Staphylococcus warneri</i>	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-
<i>Staphylococcus. sp</i>	-

II.2 PROFIL DE SENSIBILITE DES COCCI GRAM +

II.2.1 Les staphylocoques :

Les staphylocoques, bactéries ubiquitaires, font partie des germes prédominant dans le microbisme hospitalier. Les souches isolées se sont révélées très susceptibles à l'action de certains antibiotiques en particulier la Gentamicine (96 à 100%) et la Ciprofloxacine (90 à 100%). Par contre, une haute résistance à la Méthicilline a été observée.

II.2.1.1 Staphylococcus aureus

C'est l'espèce la plus représentée dans ce groupe. La détermination de la sensibilité à la méthicilline nous a permis de trouver que 78,3% de nos souches étaient résistantes.

II.2.1.1.1 Sensibilité aux bêta-lactamines

Notre étude nous a montré que la prévalence de la production de pénicillinase était 93,1% contre 6,9% de souches sensibles à la pénicilline G.

Tableau VIII: Profil de sensibilité de *S. aureus* (n = 30)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques	% R	% I	% S
FUS	Acide fusidique	16-21	0,0	0,0	0,0
AMC	Amoxicilline/ Ac clav	S _≥ 20	8,3	0,0	91,7
CIP	Ciprofloxacune	16-20	10,0	0,0	90,0
ER	Erythromycine	14-22	16,7	13,3	70,0
GEN	Gentamycine	13-14	0,0	4,0	96,0
MET	Méthicilline	10-13	78,3	0,0	21,7
PRI	Pristinamycine	S _≥ 19	0,0	0,0	0,0
SPI	Spiramycine	19-21	0,0	0,0	0,0
TCY	Tétracycline	15-18	44,8	3,4	51,7
SXT	Triméthoprim / Sulfam	11-15	21,1	0,0	78,9

II.2.1.1.2 Autres antibiotiques :

- Les Macrolides-Lincosamines-Streptogrammes :

L'Erythromycine a une bonne activité avec la majorité des souches(79,1%) qui sont inhibées à basse concentration(CMI₉₀=4µg/ml).

La Clindamicine a été très efficace avec une CMI₉₀ de 12µg/ml .

- Les Aminosides :

La Gentamicine a été très efficace sur *S. aureus* et a inhibé 89,6 % des souches à faible concentration (CMI₉₀=8µg/ml).

- Les Quinolones représentés par la Ciprofloxacine ont une bonne activité en inhibant 95,4 % avec une CMI₉₀ = 0,75µg/ml.

- La Rifampicine peut constituer une alternative de choix thérapeutique avec 4,6 % de résistance à très faible concentration (CMI₉₀=0,25µg/ml).

- La Vancomycine, Représentant des Glycopeptides a été active sur 96,7% des souches avec une basse concentration d'antibiotique (CMI₉₀=2µg/ml).
- Le Sulfamethoxazole-Trimethoprim a une activité assez notable avec 78,51,3% d'efficacité à une concentration élevée (CMI₉₀ = 64µg/ml).
- L'acide fusidique a eu 82,5% de sensibilité contre 11,7% de sensibilité intermédiaire à CMI₉₀ = 6µg/ml

Tableau IX: Profil de sensibilité de *Staphylococcus aureus* (n = 276)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques		% R	% I	% S	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC Range
FUS	Acide fusidique	S<= 2	R >=16	5,8	11,7	82,5	1	6	0,008-512
AMC	Amoxicilline/Ac clav	S<= 4	R>=8	10,1	0,0	89,9	1	6	0,125-38
CIP	Ciprofloxacin	S<=1	R>=4	2,8	1,8	95,4	.38	.75	0,094-64
CLI	Clindamycine	S<=.5	R>=4	26,2	4,8	69,0	.25	12	0,047-512
ERY	Erythromycine	S<=.5	R>=8	9,7	11,2	79,1	.125	4	0,032-512
GEN	Gentamicine	S<=4	R>+16	8,0	2,4	89,6	.25	8	0,016-512
OXA	Oxacilline	S<=2	R>=4	17,8	0,0	82,2	.5	48	0,094-512
PEN	Penicilline	S <=.125	R>=.25	93,1	0,0	6,9	2	192	0,032-512
RIF	Rifampine	S<=1	R>=4	4,6	0,0	94,7	.016	.25	0,008-128
TCY	Tetracycline	S<=4	R>=16	73,1	0,0	26,9	192	512	0,25-512
SXT	Triméthoprim/ Sulfam	S<=2	R>=4	48,3	0,0	51,3	2	64	0,064-76
VAM	Vancomycine	S<=4	R>=32	1,1	2,2	96,7	2	2	0,75-512

II.2.1.2 Staphylococcus auricularis

II.2.1.2.1 Sensibilité aux bêta-lactamines

On a noté une sensibilité moyenne à l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique (50 %). La sensibilité à la méthocilline est de 11,1% contre 88,9% de résistance.

II.2.1.2.2 Autres antibiotiques

- Les Macrolides, avec l'Erythromycine présente une sensibilité de 56,6%
 - Les Aminosides peuvent constituer un choix thérapeutiques avec la Gentamicine (100 % de sensibilité).
 - La Tétracycline à une faible activité (44,4 %)
 - Le Sulfamethoxazole-Trimethoprime a une activité assez bonne (75 %)
- L'acide fusidique a quant à lui 55,6% de sensibilité contre 11,1% de sensibilité intermédiaire.

Tableau X: Profil de sensibilité de *Staphylococcus auricularis* (n = 9)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-23	33,3	11,1	55,6
AMC	Amoxicilline/Ac clavulanique	S>=20	50,0	0,0	50,0
ERY	Erythromycine	14-22	44,4	0,0	55,6
GEN	Gentamicine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	88,9	0,0	11,1
PRI	Pristinamycine	S>=29	0,0	0,0	0,0
TCY	Tetracycline	15-18	55,6	0,0	44,4
SXT	Trimethoprime/sulfamethoxazole	11-15	25, 0	0 ;0	75,0

II.2.1.3 Staphylococcus sp

Les souches ont été sensibles à la plupart des antibiotiques testés (n = 1)

II.2.1.4 Staphylococcus xylosus

Notre étude a montré que 85,7% des souches sont méthi-R contre 14,3% de méthi-S. L'acide fusidique, l'association Amoxicilline + Ac-Clavulanique, l'Erythromycine et le Cotrimoxazole ont présenté une sensibilité moyenne. Heureusement que la Gentamicine peut constituer un choix thérapeutique avec 100 % d'efficacité.

Tableau XI : Profil de sensibilité de *Staphylococcus xylosus* (n = 7)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-21	0,0	16,7	83,3
AMC	Amoxicilline / ac. clavulanique	S>20	40,0	0,0	60,0
ERY	Erythromycine	14-22	14,3	28,6	57,1
GEN	Gentamicine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	85,7	0,0	14,3
PRI	Pristinamycine	S>=19	0,0	0,0	0,0
TCY	Tetracycline	1518	66,7	0,0	33,3
SXT	Triméthoprine/sulfaméthoxazole	1115	33,3	6,7	50,0

II.2.1.5 Staphylococcus warneri :

La résistance à la Methicilline est notable 83,3 %. Les antibiotiques comme l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique, l'Erythromycine, la Tétracycline, le Cotrimoxazole ont une sensibilité moyenne. Cependant, nos espoirs peuvent reposer sur la Gentamicine avec 100 % de sensibilité.

Tableau XII: Profil de sensibilité de *Staphylococcus warneri* (n = 19)

ATB Code	ATB Nombre	Valeurs critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-21	0,0	0,0	0,0
AMC	Amoxicilline/ac.clavulanique	S>20	1 38,5	0,0	61,5
ERY	Erythromycine	14-22	26,3	21,1	52,6
GEN	Gentamicine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	83,3	0,0	16,7
PRI	Pristinamycine	>=19	0,0	0,0	0,0
TCY	Tetracycline	15-18	57,9	0,0	42,1
SXT	Trimethoprim/sulfamethoxazole	11-15	18,8	31,2	50,s0

II.2.1.6 *Staphylococcus haemolyticus* :

La Méthicilline et la tétracycline ont été totalement inefficaces. Et le cotrimoxazole a eu 50% d'efficacité.

Les autres antibiotiques ont 100% d'efficacité.

Tableau XIII : Profil de sensibilité de *Staphylococcus haemolyticus* (n=2)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-21	0,0	0,0	100,0
AMC	Amoxicilline/ac.clavulanique	S $\geq$ 20	0,0	0,0	100,0
ERY	Erythromycine	14-22	0,0	0,0	100,0
GEN	Gentamicine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	100,0	0,0	0,0
PRI	Pristinamycine	S $\geq$ 19	0,0	0,0	0,0
SPI	Spiramycine	19-24	0,0	0,0	0,0
TCY	Tetracycline	15-18	100,0	0,0	0,0
SXT	Trimethoprine/sulfamethoxazole	11-15	50,0	0,0	50,0

II.2.1.7 *Staphylococcus epidermidis*

Une faible sensibilité à la Méthicilline a été noté ; les autres antibiotiques ont dans l'ensemble une bonne efficacité.

Tableau XIV: Profil de sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* (n = 9)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs Critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-21	0,0	50,0	50,0
AMC	Amoxicilline/Acide clav	S $\geq$ 20	14,3	0,0	85,7
ERY	Erythromycine	14-22	33,3	11,1	55,6
GEN	Gentamycine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	66,7	0,0	33,3
PRI	Pristinamycine	S $\geq$ 19	0,0	0,0	100,0
TCY	Tetracycline	15-18	44,4	0,0	55,6
SXT	Triméthoprim / sulfa	11-15	14,3	0,0	85,7

II.2.18. *Staphylococcus saprophyticus*

C'est la seule espèce qui a présenté une assez bonne sensibilité à la Méthicilline (72,7 %). Une activité moindre de l'association Amoxicilline / acide Clavulanique (66,7%) ,de l'Erythromycine (75 %°) ont été notées. Le choix thérapeutique pourra porté sur les antibiotiques comme la Ciprofloxacin et la Gentamycine avec 100% d'efficacité.

Tableau XV : Profil de sensibilité de *Staphylococcus saprophyticus* (n = 9)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs critiques	%R	%I	%S
FUS	Acide fusidique	16-21	16,7	0,0	83,3
AMC	Amoxicilline/ac.clavulanique	S>=20	33,3	0,0	66,7
CTX	Cefotaxime	15-22	0,0	0,0	100,0
CIP	Ciprofloxacin	16-20	0,0	0,0	100,0
ERY	Erythromycine	14-22	8,3	16,7	75,0
GEN	Gentamicine	13-14	0,0	0,0	100,0
MET	Methicilline	10-13	27,3	0,0	72,7
PEN	Penicilline G	S>=28	66,7	0,0	33,3
PRI	Pristinamycine	S>=19	0,0	0,0	0,0
SPI	Spiramycine	19-21	0,0	0,0	0,0
TCY	Tetracycline	15-18	41,7	0,0	5,8
SXT	Trimethoprime/sulfamethoxazole	11-15	25,0	0,0	75,0

II.2.2 Les Streptocoques :

Les souches des streptocoques sont restés sensibles à la majorité des antibiotiques principalement la Clindamycine, l'Erythromycine, la Rifampicine et la Levofloxacin. Cependant, des taux de résistances élevés ont été notés avec certains antibiotiques comme les Cyclines.

II.2.2.1 *Streptococcus pneumoniae*:

II.2.2.1.1 Sensibilité aux bêta-lactamines :

La Pénicilline G a une faible sensibilité à CMI₉₀ = 1µg/ml avec 57,9% de souches à sensibilité diminuée. L'Amoxicilline et l'association Amoxicilline / Acide Clavulanique ont été assez active sur les souches avec respectivement 95,4 % et 98,2% de sensibilité avec des CMI₉₀ respectives 1,5µg/ml et 0,25µg/ml.

La Ceftazidime a présenté une très bonne activité avec 100% d'efficacité pour une CIM₉₀=6µg/ml.

Tableau XVI: Profil de sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* (n =117)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs Critiques	%R	%I	%S
CLI	Clindamycine	16-18	14	0,0	98,6
ERY	Erythromycine	16-20	25	3,8	93,7
LVX	Levofloxacin	14-16	2,0	9,8	88,2
OXA	Oxacilline	S>=20	12,5	0,0	87,4
PRI	Pristinamycine	S>=19	15	0,0	85,0
RIF	Rifamycine	17-18	0,0	0,0	100,0
TCY	Tetracycline	19-22	20,8	23,9	55,3
TLT	Telithromycin	S>=29	64,7	0,0	35,8

II.2.2.1.2 Autres antibiotiques :

- Les Macrolides ont été efficaces avec des valeurs de 87,5% pour la Clindamycine et 88% pour l'Erythromycine avec des CIM₉₀ respectives 0,38 et 2µg/ml.
- La Rifampicine a été très active et a inhibé la quasi-totalité des souches à faible concentration CMI₉₀ = 0,38µg/ml).
- La Vancomycine, a 79,2% d'efficacité à CIM₉₀ = 4µg/ml.
- La Tétracycline et le Cotrimoxazole constituent les antibiotiques les moins actifs surtout la Tétracycline.

La Chloramphénicol quant à elle, a présenté une bonne activité avec 87,4% de sensibilité.

Tableau XVII : Profil de sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* (n=159)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs Critiques	%R	%I	%S	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC Range
AMX	Amoxicilline	S<=2 R>=8	4,6	0,0	95,4	.032	1.5	0,008-256
AMC	Amoxicilline /ac. Clav	S<=2 R>=8	6,0	0,9	98,2	.016	0.25	0,008-64
CTX	Cefotaxime	S<=.5 R>=1	20,8	0,0	79,2	.094	1	0,015-125
CRO	Ceftriaxone	S<=.5 R>=1	10,0	0,0	90,0	.023	1.5	0,016-75
CHL	Chloramphenicol	S<=4 R>=8	19,6	0,0	87,4	2	1.25	0,125-75
CLI	Clindamycine	S<=.25 R>=1	0,0	12,3	87,5	.125	.38	0,019-0,5
ERY	Erythromycine	S<=.25 R>=1	11,6	0,0	88,4	.094	2	0,016-512
PEN	Penicilline G	S<=.064 R>=2	7,5	57,9	34,6	.5	1	0,016-8
RIF	Rifampine	S<=1 R>=4	2,5	0,0	97,5	.094	.38	0,016-64
TCY	Tétracycline	S<=2 R>=8	18,2	8,2	73,6	1	15	0,064-128
SXT	Triméthoprim/sulfam	S<=.5 R>=4	12,7	12,0	68,3	.25	8	0,032-25
VAN	Vancomycine	S<=1 R>=2	20,8	0,0	79,2	.5	4	0,016-75

II.2.2.2 *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque bêta-Hémolytique groupes A) :

La majorité des antibiotiques a présenté une bonne efficacité sur les souches, surtout la Vancomycine, et la Clarithromycine avec des taux de 100% à des CMI₉₀ respectives 0,064µg/ml et 0,25µg/ml. Cependant, les Cyclines ont présenté des taux de résistance élevés de l'ordre de 70,9 % avec une sensibilité intermédiaire de 25,5 %.

Tableau XVIII : Profil de sensibilité de *Streptococcus pyogenes* (n = 61)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs Critiques	%R	%I	%S
CLI	Clindamycine	15-20	0,0	23,0	77,0
ERY	Erythromycine	14-22	0,0	13,1	86,9
LVX	Levofloxacin	14-16	0,0	6,9	93,1
PEN	Pénicilline G	S>=28	1,7	0,0	98,3
TCY	Tétracycline	15-18	70,9	25,5	3,6
VAN	Vancomycine	S>=15	0,0	0,0	100,0
TLT	Télithromycine	S>=29	71	0,0	29,00

Tableau XIX: Profil de sensibilité de *Streptococcus pyogenes* (n = 46)

ATB Code	ATB Nom	Valeurs Critiques	%R	%I	%S	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC Range
CLR	Clarithromycine	S<=2 R>=8	0,0	0,0	100,0	.125	.25	0,0625-0,25
CLI	Clindamycine	S<=.5 R>=4	0,0	4,3	95,7	.064	.125	0,016-0,64
ERY	Erythromycine	S<=.5 R>=8	13,0	4,3	82,6	.125	.128	0,004-128
PEN	Penicilline G	S<=.125 R>=.25	4,0	0,0	96,0	.016	.032	0,008-8
SPI	Spiramycine	S<=2 R>=8	0,0	0,0	0,0	.064	.125	0,0625-8
VAN	Vancomycine	S<=4 R>=32	0,0	0,0	100,0	.064	.064	0,032-0,64

III. DISCUSSION

III.1 LES STAPHYLOCOQUES

III.1.1 *Staphylococcus Aureus* :

Notre étude a montré que 78,3 % des souches de notre étude sont Méthi-R contre 21,7 % sensible à la Méthillicine.

Le taux de résistance à la Méthicilline observé dans notre étude est supérieur à la moyenne nationale en France qui se situait entre 30-33,6 % en 1997 et jusqu'à 46,3 % dans les unités de soins intensifs (16, 40).

La littérature a rapporté des taux comparables aux nôtres en Europe 60 % (37) et au Sénégal avec SY K. R. (80) et WADE (84) avec respectivement 32,2 % et 75 % en 1996. Des taux plus faibles ont été notés à Dakar (19) en Côte d'Ivoire (35) en Suisse et au Danemark (69) qui sont dans l'ordre 10 %, 9,09 %, 10 %, 1,8 % et 0,1 %.

La fréquence de SARM varie selon l'activité des services, la nature des infections, la politique de prophylaxie et de thérapeutique antibiotique suivie dans les Hôpitaux. Le phénomène de « résistance » est spécifique à une espèce bactérienne, d'un antibiotique (ou d'une famille d'antibiotique) ; et d'un site géographique.

La première difficulté est l'absence de consensus international quant aux concentrations critiques qui entretient une confusion majeure lors du regroupement des données provenant de pays différents (14).

La pénicilline G a été inactive .

Déjà en 1993, une étude à Dakar avait révélé 22% de sensibilité (83), ce qui nous fait penser à une diminution de la sensibilité des souches de ***Staphylococcus aureus*** à la Pénicilline. Ce fait est confirmé par plusieurs études (41,62,69).

Cette inactivité de la Pénicilline est essentiellement due à la sécrétion de Pénicillinases codée par des plasmides. Normalement inductives, elles peuvent être produites à haut niveau de manière constitutive (69).

La forte production de Pénicillinases sera neutralisée par l'Acide clavulanique, ce qui permet de comprendre l'efficacité de l'inhibiteur de ces enzymes (89,9 %) à CMI₉₀=6µg/ml.

L'Erythromycine a eu une assez bonne activité avec 79,1 % de sensibilité à CMI₉₀ = 4µg/ml.

Cette valeur obtenue diffère des résultats trouvés dans l'Hôpital Aristide Le Dantec en 1996. Des études effectuées dans ce même laboratoire avaient donné des résultats plus élevés, respectivement 90,3 % et 93 % (32, 80).

Dans un travail antérieur mené par REVERDY et COL., les taux de résistance suivants ont été observés avec l'Erythromycine 17% entre 1980 et 1982, 18 % entre 1983 et 1985, 22 % entre 1986 et 1988 et 28 % entre 1989 et 1991 (81).

Dans une autre étude, 32 % des souches de *Staphylococcus aureus* isolées présentent une résistance aux Macrolides. Des résultats observés en 1992 dans le centre hospitalier de Remiremont sont de 37,9 % des souches résistantes à l'Erythromycine (79). Ces résultats sont sensiblement proches des résultats de notre étude.

Les Aminosides ont été très efficaces sur les staphylocoques et ont inhibé la quasi totalité des souches avec 82,6 % de sensibilité. Cette grande efficacité a déjà été observée par SY K. R (80) en 1996, WADE (84) et DIA N. (26).

La Ciprofloxacine a eu une bonne activité et a éliminé la presque totalité des souches.

La Rifampicine est un excellent anti-staphylococcique, cela est confirmé par les résultats de notre étude (94,7%) à CMI₉₀=0,25µg/ml mais également par d'autres études avec 98% (43) et 99,4% (83). La résistance à la Rifampicine se trouve essentiellement chez les souches résistantes à la Méthicilline.

En ce qui concerne l'Hôpital de Bichât Claude Bernard pour l'année 1999, 30% des souches SAMR étaient résistantes à la Rifampicine (52).

Tous les staphylocoques sensibles à la Méthicilline le sont à la Vancomycine. La quasi-totalité des *Staphylococcus aureus* est sensible à la vancomycine qui reste le traitement des infections à staphylocoques résistantes à la Méthicilline.

Mais, récemment, il a été décrit des souches de *Staphylococcus aureus* présentant une diminution de sensibilité à la Vancomycine (37) ce qui pourrait expliquer le résultat obtenu par notre étude avec le méthode E-Test (96,7%) à $CMI_{90}=2\mu\text{g/ml}$.

Cette diminution de la sensibilité à la Vancomycine de souches de *Staphylococcus aureus*, par ailleurs résistant à la Méthicilline avait été rapportée par l'équipe de HIRASMATSU K. (TOKYO, JAPON) en 1997 (49).

L'association Sulfaméthoxazole / Triméthoprime est l'un des antibiotiques les plus utilisés dans nos structures en cas de staphylococcies (29).

Ce travail révèle que 21,1 % ont résisté à cet antibiotique contre 10 % et 7,7% dans des études réalisées à Dakar, en 1998 et 1992 (30, 73) .

Une étude effectuée au Mali rapporte que 46 à 55 % des souches ont été résistantes à cet antibiotique entre 1980-1991 (53), d'autres publications indiquent des fréquences de résistance de 73,1% au CHU ARISTIDE LE DANTEC en 1993 (49), de 1,05 % au centre hospitalier de Remiremont (62) et à 0,03 % entre 1980 et 1991 dans une étude Française (81).

Le facteur géographique semble jouer ici un rôle déterminant dans l'hétérogénéité des statistiques.

Le Cotrimoxazole avait subi une évolution rapide vers la résistance ces dernières années. Cette résistance est attribuée à l'utilisation intempestive de ce produit qui a exercé une pression sélective des souches résistantes.

III.1.2 Les staphylocoques coagulase négative (SCN)

Une étude épidémiologique récente dans des unités de Réanimation en Europe a montré que 19,1% des infections acquises en réanimation étaient dues à des SCN (37) .

Les infections à SCN occupent en milieu hospitalier une place croissante en raison de leur caractère de résistance aux antibiotiques et cela malgré leur moindre pouvoir pathogène par rapport à celui de *Staphylococcus aureus*.

Leur sensibilité et leur résistance sont comparables mais non superposables à celles décrites par *Staphylococcus aureus*.

Elles forment un groupe hétérogène dont le comportement vis à vis des antibiotiques varie selon l'espèce (voir tableaux X, XI, XII, XIII, XIV et XV) et elles apparaissent relativement plus résistantes aux antibiotiques que les souches de *Staphylococcus aureus*.

Les espèces isolées ont été : *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus warneri*.

Staphylococcus epidermidis et *Staphylococcus haemolyticus* de plus en plus isolées au cour des infections nosocomiales sont généralement multirésistantes aux antibiotiques contrairement aux autres.

Selon la littérature, il existe une résistance enzymatique et une modification de la cible vis à vis des bêta-lactamines.

Ces espèces produisent une pénicillinase plasmidique inductible qui inactive les pénicillines G, V, les amino-, carboxy- et ureidopenicilline.

Cette Penicillinase est inactive sur la Pénicilline M et les Céphalosporines. Elle touche 60 à 80 % de souches de SCN (60). Nos résultats nous le confirment avec 67,7 % à 100 % de souches. Cependant, l'association avec un inhibiteur de

Bêta-lactamase, augmente l'activité des Aminopénicillines de façon variable en fonction de l'espace (voir tableau X, XI, XII, XIII, XIV et XV).

Quant aux céphalosporines, l'inhibition de la Pénicillinase permet d'avoir des taux de sensibilité assez élevés (100 % avec la Céfotaxime).

Notre étude a montré que les souches isolées sont très sensibles aux aminosides malgré l'existence de souches résistantes. Cette résistance est acquise par la présence d'enzymes modificatrices (phosphoryl transférase- adényl-transférase) phospho acétyl- transférase (60).

Les souches sont cependant restées sensibles à l'Erythromycine dont la fréquence varie autour de 60 % avec maximum (100%) (***Staphylococcus sp*** et ***Staphylococcus haemolyticus***). Ce taux de résistance pourrait être expliqué par une diminution de la perméabilité (60).

La Ciprofloxacine est très efficace sur ces souches avec une fréquence de sensibilité de 100 %.

La Tétracycline a eu une efficacité assez faible avec une sensibilité qui gravite autour de 40 %. Ce faible taux de sensibilité est dû à la fréquence des résistances mais aussi à l'utilisation intempestive de cette molécule dans nos structures.

Le Cotrimoxazole a connu une légère baisse de sensibilité dont les raisons ont été énumérées avec ***Staphylococcus aureus***.

A l'exception de ***Staphylococcus saprophyticus*** qui est resté sensible à la plupart des anti-staphylococciques (72,7 % de sensibilité à la methicilline) les autres SCN particulièrement ***Staphylococcus haemolyticus*** sont souvent multirésistants ce qui a été confirmé par les résultats de notre étude (100 % de résistance pour ***Staphylococcus haemolyticus***).

Les glycopeptides représentent donc le traitement de choix en première intention des infections sévères à SCN.

III.2 LES STEPTOCOQUES :

Ils constituent un ensemble très hétérogène sur le plan de la sensibilité aux antibiotiques.

III.2.1 *Streptococcus pneumoniae* :

Le pneumocoque a vraisemblablement dominé les années 90. L'émergence et l'évolution rapide des résistances aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* constituent en effet un réel problème (21) d'autant que ce germe est responsable en milieu pédiatrique de 26 % des méningites purulentes à Dakar (17). La sensibilité à la Pénicilline a été faible (34,6%) avec 57,9% de sensibilité intermédiaire. En 1996 DRAME avait trouvé 65 % (32) de sensibilité et 35 % de sensibilité intermédiaire tandis que SY (80) décrivait 7,1% de souches résistantes. Ceci montre la dissémination rapide des souches de pneumocoques de sensibilité anormale à la Pénicilline. Ce phénomène est plus important dans les pays d'Europe et aux Etats-Unis.

En France, la fréquence des pneumocoques à sensibilité diminuée à la Pénicilline en 1995-1996 est passée de 20 % à 36 % (20).

Actuellement elle avoisine les 50 % (42).

Au Canada, on a 8,4 % de résistance et 14,2 % de sensibilité intermédiaire (7).

Mais, la première description du pneumocoque présentant une sensibilité diminuée à la Pénicilline date de 1967 à Sydney (60). Les associations de l'Acide clavulanique avec l'amoxicilline ou la Ticarcilline ont été très efficaces sur les souches (86,5 à 100 %) comme l'estime aussi SY. K. R. (80) et BEN REJEB (10).

La Vancomycine et la Rifampicine ont présenté une très bonne activité avec respectivement 79,2 % pour la Vancomycine et 97,5% pour la Rifampicine à $CMI_{90}=0,38\mu\text{g/ml}$.

Pour les Macrolides, l'Erythromycine a été pratiquement efficace sur la majorité des pneumocoques, ce taux est proche de celui trouvé par FAYE en 1997 (43).

Le Cotrimoxazole a été actif sur 68,3 % de souches ce qui est assez efficace, mais selon COHEN et Col. l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprine n'est pas une alternative acceptable pour le traitement des pneumocoques (32,3 %) des souches résistantes (21).

La Tétracycline a présenté une activité moyenne selon une étude multicentrique Française de 2003.

La résistance aux Macrolides (25 %) au Cotrimoxazole (3%) et aux Cyclines était suffisamment fréquente pour que ces antibiotiques ne soient pas considérés comme une alternative thérapeutique au traitement de première intention des infections respiratoires et ORL en France (60).

III.2.2 Streptocoque bêta-hémolytiques **groupe A (*Streptococcus pyogenes*)**

La littérature considère la Pénicilline G comme étant l'antibiotique de choix dans le traitement et la prophylaxie des infections à streptocoques surtout du groupe A (29). Cependant, un taux de résistance de 4 % a été observé avec une $CMI_{90} = 0,032\mu\text{g/ml}$. Ce taux est corroboré par des résultats trouvés à Dakar en 1996 par SY. R. 7,7% (80) et DIA N en 1998 13%.

La Vancomycine a présenté une bonne activité avec 100 % d'efficacité ; DIA N (26) et TIDJANI A. (82) ont trouvé une bonne activité de la Vancomycine.

Les Macrolides ont été actifs ; la Clindamycine a présenté une sensibilité intermédiaire de 4,3 à $\text{CMI}_{90} = 0,125\mu\text{g/ml}$ de même que l'Erythromycine qui à 4,3% comparables à celle trouvée par DIA N. 9 et 20 % (26).

La Tétracycline a été pratiquement inefficace. Cette résistance pourrait être due à un efflux d'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur, soit à une protection ribosomale (69).

Les Quinolones avec la Lévofoxacine ont eu une bonne efficacité d'action, cependant une résistance de 7% a été notée.

Le développement des médicaments prévenant et guérissant des infections bactériennes est l'un des contributions majeures du XX^{ème} siècle à l'allongement de la durée de la vie et à sa qualité. Les agents antibactériens sont parmi les médicaments les plus prescrits dans le monde. Utilisés de façon appropriée, ils peuvent sauver la vie.

Cependant, leur utilisation sans discernement élève les dépenses de santé, entraîne une foule d'effets secondaires et d'interactions médicamenteuses et favorisent l'émergence de résistances bactériennes rendant inutiles des produits auparavant actifs. En effet, l'évolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques a entraîné des mutations dans la flore bactérienne. On assiste ainsi à l'émergence de bactéries multirésistantes responsables d'infections nosocomiales. Ces dernières peuvent avoir des conséquences graves sur le pronostic vital des malades et entraîner une augmentation de la durée d'hospitalisation et des frais annexes.

Alors il est impératif de surveiller les phénotypes de résistance des agents infectieux à l'hôpital. La surveillance régulière de la résistance aux antibiotiques et la connaissance de l'écologie bactérienne de l'hôpital sont indispensables pour supporter le choix de traitements efficaces et adaptés à l'épidémiologie locale, limiter l'émergence et la diffusion des souches multirésistantes et préserver les molécules les plus actives.

C'est dans cet optique que nous avons entrepris de déterminer le profil de sensibilité de 719 souches bactériennes de cocci à Gram positif isolées au laboratoire de Bactériologie-virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec d'Octobre 2004 à Mai 2005.

Toutes les souches ont été testées par la méthode de l'antibiogramme standard, 660 par la méthode de E-Test et ont concerné 368 souches de staphylocoques et 351 souches streptocoques. Les résultats aux quels nous avons abouti peuvent être ainsi résumés.

▪ ***Staphylococcus aureus* :**

La résistance à la Méthicilline est de plus en plus fréquente. Le mécanisme principal de résistance passe par la modification d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP2a) qui confère une résistance croisée à toutes les bêta-lactamines.

Cependant l'association Amoxicilline + les inhibiteurs de bêta-lactamases, peuvent être utilisés dans le traitement des infections staphylococciques.

Pour les autres antibiotiques, la Rifampicine et la Clindamycine demeurent les meilleures alternatives. L'Erythromycine a confirmé également une assez bonne activité sur *Staphylococcus aureus*.

L'association Sulfamethoxazole- Trimetoprim s'est caractérisée par une activité moyenne.

▪ **Les autres staphylocoques**

***Staphylococcus auricularis* :**

Les antibiotiques les plus efficaces ont été la Cefotaxime, la Ciprofloxacine et la Gentamicine.

***Staphylococcus. sp* :**

La majorité des antibiotiques testés ont eu une très bonne activité (chloramphénicol, Erythromycine, Gentamicine Oxacilline, Rifampicine et Vancomycine).

***Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* :**

L'antibiotique de choix est la Gentamicine.

***Staphylococcus haemolyticus* :**

Le choix thérapeutique est porté sur l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique, l'Erythromycine et la Gentamicine.

▪ ***Streptococcus pneumoniae***

On a noté une émergence de souches de pneumocoques à sensibilité diminuée à la Pénicilline (57,9 %). Cependant, d'autres bêta-lactamines comme la Céfotaxime, la Ceftriaxone, l'Amoxicilline seule ou en association pourront être utilisées dans le traitement des infections streptococciques avec une grande efficacité.

Ainsi la Rifampicine, la Gentamicine, la Céfotaxime et la Ceftriaxone constituent de bonne alternative. Enfin l'Erythromycine peut être efficacement utilisée.

Quant à la Tétracycline et le cotrimoxazole, ils ont présenté des activités moyennes.

▪ **Streptocoques Bêta-hémolytique groupe A**
(*Streptococcus pyogenes*) :

Le choix thérapeutique se portera sur la Vancomycine et la Clarithromycine. Aussi la Pénicilline G, la Levofloxacinine et la Clindamycine pourront être utilisées efficacement.

La prévention de l'émergence des souches résistantes est alors apparue comme une nécessité absolue. N'oublions pas que les bactéries ont une faculté d'adaptation redoutablement efficace et quasi-permanente, contrairement, semble-t-il, à la capacité actuelle de production d'antibiotique totalement nouveaux.

Alors, la prescription des antibiotiques doit prendre en compte non seulement l'effet recherché sur l'infection des malades traités, mais aussi leurs effets sur l'écologie bactérienne et donc sur la collectivité.

1. ANDREMONT A.

Antibiotiques : données générales sur les modes d'actions et les mécanismes de résistance :

Rev. Prat. 1993 ; 43(19) : 2545-50

2. BA M.

Etudes des marqueurs épidémiologiques de souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à Dakar.

Th. Pharm. Dakar. 1993, n° 79

3. BA S.

Phénotypes des souches de streptocoques sensibles aux aminosides.

Th. Pharm., Dakar, 1995, n° 44

4. BAUERNFEIND A.

Classification of beta-lactamases.

Rev. Infect. Dis., 1986, 8 : suppl. 5, 470-478

5. BAYAN L.

Two Form of antimicrobial résistance : bacterial persistence and function resistance.

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

6. BEN R. ; KAMOUN A.

Surveillance de la sensibilité *in vitro* de différents pathogènes isolés de prélèvements trachéo-bronchites, pus chirurgicaux, hémocultures, urines et d'isolats de *N. gonorrhoeae*.

Med. Diges.t; 1995. SUPPL. 4.24.31.

7. BESNIER J. M. ; CHOUTET P.

Traitement des infections à staphylocoque méticilline- résistant.

In *“La lettre de l’infectiologue-Tome VII, n° 13, Septembre 1992”* 444-446

8. BISMUTH R.

Cocci à Gram positif et aminosides in P. COURVALIN

.GOLDSTEIN, A.PHILLIPON et J.SIROT.

L’Antibiogramme, 1985,29-39.

9. BINGEN E.

Mécanismes d’action des bêta-lactamines.

In *“Mécanismes d’action des bêtalactamines : de la structure bactérienne à la structure de la Molécule » Roussel Nice*, 1986,7.30.

10. BUISSON Y.

Résistance aux Antibiotiques

In *“La lettre de l’infectiologie” Suppl. TOME VIII N° 16 Octobre 1993* 18ème Congrès ICC

11. BUSH K.

Characterization of beta-lactamases.

Antimicrobial-Agents chemother, 1989,33 :259-263.

**12. CAILLEAUX U. ; TALON D. ; THOUVERZ M. ; BAILLY P. ;
MULIN B. ; MICHELBRIAYD. Y.**

Les membres du réseau franc-comtois de lutte contre les infections nosocomiales et les biologistes des hôpitaux de Mâcon, Mulhouse et de Troyes. *S. Aureus* methicilline-résistants: Importance et transmission croisée dans l'Est de la France
Med. Mal. Infect. 1996 ;26 :475-81

13. CHABBERT Y. A.

L'antibiogramme. Sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques.
Collection technique de bases, Edition de la Tourelle, Saint Mandé, 1963

14. CHRYSOSTOME N. J.

Sensibilités aux antibiotiques de *S. aureus* isolé en milieu hospitalier.
Th. Med. Dakar, 1984, n° 24.

15. CISSE M. F. et COLL.

Bactériologie et aspects épidémiologiques des méningites purulentes à l'hôpital de l'Enfant Albert Royer FANN du CHU de Dakar
Dakar Med. 1987; 32:15-6

16. COHEN R. ; GESLIN P.

La résistance aux antibiotiques modifie-t-elle le pronostic des méningites et des otites moyenne aiguës à *S. pneumoniae*.
Med. Mal. Infect. 1997, 27 special: 496-501

17. COHEN R. V.; DE LA ROCQUE F. ; GESLIN P

S. pneumoniae : Sa place en pathologie pédiatrique implications thérapeutiques de l'évolution de la résistance bactérienne
Med. Mal. Infect. 1991;21: 297-302

18. COURS DE PHARMACOLOGIES.

Association des enseignants de pharmacologie.

Ed. Ellipses Paris, 1987, P 433-503.

19. COURVALIN P. ; CALIER C. ; COLLATZ E.

Plasmed mediated resistance to aminocyclitol antibiotic in *D streptococci* J.

Bacteriol. 1980, 43:541-551.

20. COURVALIN P. ; SHAW W. C. ; JACOB A. E.

Plasmed Mediated mechanism of resistance to aminoglycoside,
aminocyclitol antibiotics and to chloramphenicol in group *D. Streptococci*.

J. Antimicrob. Chemother 1978. 13: 716-725

21. CULLMAN W

L'induction non spécifique: définition et conséquences

Med. Mal. Infect.,1998,Hors série 24

22. CURTIS N. A. C. ; EISENSTADT R. L. ; TURNER K. A ; WHITE A. J.

Porin mediated cephalosporine resistance in *Escherichia coli* K.12.

J. Antimicrob.Chemother, 1985,15,642-644.

23. DELABRE J. M ; GRASMICK P. ; COUMENGES P Et AL.

Sensibilité aux antibiotiques de *Escherichia coli* isolé d'hémocultures et
d'examen cytot bactériologiques des urines réalisés dans 15 Hôpitaux généraux du
Sud-ouest de la France.

Med. Infect. 1994 : 24, spécial 535-8

24. DE MOUY D. ; LEPARGNEUR J. P. ; AURIOL J. C. et AL.

Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires en pratiques de ville de 1986 à 1993.

Med. Mal. Infect. 1994 ; 24, spécial 539-42.

25. DIA B.

Résistance des staphylocoques et des streptocoques aux antibiotiques.

Th. Pharm., Dakar, 1993 n°67.

26. DIA N.

Sensibilités aux antibiotiques des souches isolées d'hémocultures au C.H.U.

Aristide. Le Dantec.

Th. Pharm, Dakar, 1998, n° 55

27. DIA-TINE L. ; GENTILE B. et AL.

Sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les cellulites d'origines dentaires au Sénégal (résultats d'une enquête sur 49 cas).

Dakar Médical 1993 ; 38:93-6

28. DIONE. E. H.

Phénotypes de résistances des principales bactéries isolées à l'HPD sur une période de 31 mois : applications pour une politique de l'antibiothérapie. *Th. Pharm.*,

Dakar, 1997 n° 14

29. DOPFTC, MAY th, CANTON P

Acide fusidique. Edition Techniques EMC (Paris France)

Mal. Infect., 8-004- J20, 1993, 2p.

30. DOROSZ PH.

Guide pratique des médicaments

Ed. Maloine (24^{ème} Edition) Paris, 2004, 69p

31. DOSSO M.

Etude de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques différents isolats à ABIDJAN:
résultats à propos de 90 isolats

Med. Digest., 1995, suppl 4,32-38BH

32. DRAME B. G.

Phénotypes de résistances des souches bactériennes isolées au C.H.U. Aristide Le Dantec.

Th. Pharm., Dakar, 1999 , n°05

33. DUPONT A.

Infections à staphylocoques in “conférence d’actualisation, Paris, 2000, P. 447-463.

Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS et SFAR

34. DUTKA-MALEN S. ; COURVALIN P.

Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les Entérocoques.

Med. Mal. Infect. 1994 ;24, special:158-164.

35. EDOH V. ; AGNIMELA M. ; BOKA B.

Etat de résistance de *S. aureus* au CHU de Treicheville.Abidjan.

Etude sur 387 souches hospitalières isolées de Janvier à Décembre 1998

In(Le pharmacien d’Afrique) n°152 Décembre 2001;15-19p.

36. ELKOURIDLE G. ; KENZIA A. D. ; BARON D. ; POTEL G.

Thérapeutique des infections à staphylocoques

Encycl. Med. Chir (Elsevier, Paris), Mal. Infect., 8.0007-B-10, 1998,7p.

37. FATTORUSSO V.; RITTER O.

Vademecum clinique

Ed. Masson (16^{ème} Edition) Paris, 2001. P 415-440;926-929;1070;1483

38. FAYE I.

Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes isolées à

Dakar. Intérêt de l'utilisation de la technique du E-test et du programme WhonetV

Th. Pharm, Dakar ,1997, n°7

39. FLORES M.R, HALEY J.A, ROSS T.W., LEE H.

Vancomycin-resistant Enterococci: approach to treatment and control.

Canc. Contr. J. 1996 ; 3 (1) : 1-8

40. FONTANA R.

Penicillin Binding proteins and the intrinsic resistance to beta-lactam in gram positive cocci.

J. Antimicrob. Chemother, 1985, 412-415

41. FRANCOIS N. S. ; MAINARDI J. L.

Enterococcus faecalis : Aspects bactériologiques, épidémiologique et thérapeutique.

Feuil. biol. 1998 39 (220) : 21-26

42. GODFREY A. J. ; HATLELID L. H. ; BRYAN L. E.

Correlation between lipopolysaccharide structure and permeability resistance in betalactam resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrobial.Agents chemother 1984, 26, 181-186.

43. GOLDSTEIN F. W. ; GUERRIER M. L. et AL.

In vitro emergence of simultaneous resistance to both beta-lactam and aminoglycoside antibiotics in a strains of *Serratia marcescens*.

Anti-microiobial. 1993, 134, 329-337

44. GUTMANN L. ; GOLDSTEIN F.

Staphylocoques et Bêta-lactamines. In : COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILLIPON A et AL

Edition L'antibiogramme. Paris. Mpc. Vidéom 1985: 23-8

45. HARIMAN B. J. ; TOMASZ A.

Expression of methicillin resistance heterogeneous strains of *staphylococcus aureus*.

Antimicrobial-Agents chemother, 1986,29,85-92.

46. HARRISON V. ; BRAUMWALD F.K. ; JAMESON H. L.

Approche du traitement des maladies bactériennes In « Principes de Médecine interne 1 »

Edition Flammarion (15^{eme} Edition) Paris,2002, P. 867-303

47. HAYES M. V. ; WARD J. B.

The role of penicillin binding proteins in antimicrobial activity of beta-lactam antibiotics in « antibiotics in Laboratory medecine »

Ed. V. Lorian, 1985, 722-576

48. HENNING K. ; BRONN A. E.

Vancomycin résistant enterococci

Infect. Urol. 1995.8 (6) 185-187

49. HIRAMATSU K. ET AL

Diminution de la sensibilité des Staphylocoques dorés à la Vancomycine

Abstract 1067, TOKYO, JAPON 1997

**50. HORODNICEANU T. ; BOUGUELERET L. ; EL SOLHIN ;
BIETH G. ; DELDOS F.**

High Level plasmid born resistance to gentamicin in *streptococcus faecalis sub sp zymogenes*

J. Antimicrob. Chemother. 1979; 76: 686-689

51. INTRICTIC usual résistances.

To macrolides-lincosamides et streptogramins antibiotics in bactérie.

Antimicrob. agents chemother 1991 35-1273-1276.

52. JAFFE A, CHABBERT Y.A. DEMONINO

Role of porine proking OmpF ang OmpC in the permeation of betalactam..

Antimicrob Agent chemother, 1982, 22, 942-948.

53. JARLIER V.

Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines description et fréquence, place d'*E. cloacae*

Med. Mal. Infect. ; 1988, Hors série 30-40

54. JAZY. A.

Etudes de la sensibilité aux antibiotiques de souches urinaires d'entérobactéries à Niamey (Niger)

Th. Pharm., Dakar, 1993, n°74

55. JIA TAI L. ; YE Z. ; YUAN L. ; FANG C. Y.

A surveillance study on penicillin-resistant *S. pneumoniae* in China

Abstract 22.005.

56. JUPEAU- VESSIERES A. M. ; SCAVIZZI M. R.

Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Encycl. Med. Chi.r (Paris-France). Mal. Infect., 8.006-0-10, 1994,16p.

57. KENNETH T.

Bactériologie 330 lecture Topics : bacterial résistance to antibiotics 1996

58. KING. J. V.

Antibiotic resistant

Bug Bytes Vol.2 N° 13, Octobre 4, 1995

59. LAI W. M. ; WONG P. S ; TSANG D. N. C.

Antimicrobial susceptibility and serotypes

Distribution among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hong-Kong (abstract 22.002)

In 7th international congress for infections diseaes, Hong-Kong, 1996:48

60. LAURICHESSE H. ; HENQUELL C. ; MARCUCILLIA et AL.

Epidémiologie des résistances d'Eschérichia coli en Auvergne : d'après différentes souches.

61. LE MINOR L. ; VERON N.

Bactériologie Médicale, Med. Sciences,

Ed. Flammarion 2eme Edition, Paris 1989, 333-318, 773-828.

62. LECLERC R.

Les antibiotiques

In "La lettre de l'infectiologue" Tome VII N° 2/3, Février 1993, 32^{ème} ICAAC

63. LECLERC R. ; COURVALIN P.

Bacterial resistances to Macrolides, lincosamides and streptogramins antibiotics
by Target modification

Antimicrobial agents chemother 1331: 35. 12 67- 1272P.

64. LUCH T. F. ; BERTHELOT P. ; FRESARD D. A.

Le traitement des infections à entérocoques.

Med. Mal. Infect. 1994 ; 24. special : 207.217.

65. MAINARDI J. L. ; GOLDSTEIN F. W. ; GUTMANN L.

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Encycl- Med-chir. (Elsevier, Paris). Mal. Infect., 8-006 N-10, 1996, 8p.

66. MALOUIN F; BRYAN L. E

Modification of penicillin binding proteins as mechanisms of betalactam resistance.

Antimicrob. Agents chemother, 1986, 30, 1-

67. MARA M. A

Description par E-Test de la sensibilité des souches dakaroises de *S. aureus*.

Th. Pharm. Dakar 1998.

68. MIQUEL L. ; BLAISE D ; STOPPA A ; M. ; MARANINCHI D.

Sensibilité aux antibiotiques dont l'acide fusidique de 1475 souches de staphylocoques isolées dans un institut de cancérologie en 1989 et 1990.

Med. Mal.Infect. 1992 ; 22: 855-8

69. NIKAIDO H ; VAARA M.

Molecular basis of bacterial outer membrane permeability Microbiol

Rev.; 1985, 49, 1-3

70. PHILLIPON A. ; COURVALIN P.

Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antimicrobiens

In LEMINOR VERON Bactériologie Médicale sciences Edition Flammarion (2^{ème} Ed.). Paris, 1989 332-55.

71. PHILLIPON A. ; PAUL G ; NEVOT P.

Bêta-lactamases: Incidences et intérêt clinique

Rean. Soins. Intens. Med. Urg 1987,3 :229-237

72. PIDDOCK L. J. V. ; WISE R.

Newer mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in gram negative bacteria.

J. Antimicrob. Chemother, 1985,16-279-284

73. PINCHON T. M. ; EMERIQUE P. ; DEMANGE C.

Consommation d'antibiotiques et profil de sensibilité de quelques micro-organisme dans un centre hospitalier général

Med. Mal. Infect., 1993., 23: 360-6

74. PLAMDROIS J.P., CHOMARAT M.

Bactériologie Médicale pratique

Edition les laboratoires 1988 ; Paris, page 142 – 203 - 223

75. REVERDY M. E. ; BES M. ; BRUN Y. ; FLEURETTE J.

Evolution de la résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques de souches hospitalières de *S. aureus* isolées de 1980-1991

Pathol. Bio.l.; 1993;41, N° 9:397-904

76. ROBERT- DERNUET I. S.

Antibiotiques et antibiogramme. Paris-Montréal,

Vigot Decarie, 1995, 322 P

77. SOW. A. I. ; FALL M. I. ; BOYE C.S. ; GAYE D. A. ; DIOP D. ; CISSE M. E.; MBOUP S. ; SAMB A.

Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées en situation pathogène au CHU de Dakar; sécrétion de pénicillinase, résistance hétérogène.

Médecine d'Afrique Noire, 1993, 40 (6)

78. SPRATT B. G.

Penicillin Binding proteins and the future of beta-lactam antibiotics

J. Gen. Microbiol. 1983, 129, 1247-1260

79. STOSOR V. ; NOSKIN G. A. ; PETERSON L. R.

The management and Prevention of Vancomycin resistant Enterococci.

Infect. Med. 1996; 13(6):487,488,493-498

80. SY K. R.

Souches bactériennes et résistances aux antibiotiques.

Th. Pharm., Dakar, 1996, n° 55.

81. TANKOVIC J. ; SOUSSY C. J.

Mécanisme de résistance aux fluoroquinolones: données récentes ;

In "La lettre de l'infectiologue Tome XIII n° 5 Mai 1998"

82. TIDJANI A.

Antibiothérapie dans les infections nosocomiales en gynécologie obstétrique

Th. Pharm.; Dakar, 1998 N° 61

83. VERHAEGEN J. ; VERBIST. L

La méthode E-Test est-elle fiable pour la détermination de la sensibilité des *S. pneumoniae* sensible et résistante à la Pénicilline G

ICAAC, 1996

84. WADE A.

Sensibilité des souches de *S. aureus* au CHU de FANN (1994-1996).

Th. Pharm. Dakar 1996 N° 81