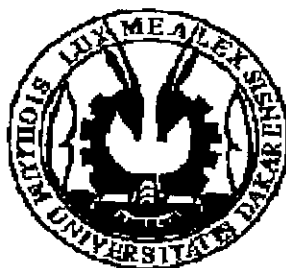


UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



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



ANNEE 2008

N° 89

**STANDARDISATION D'UNE METHODE D'ETUDE
IN VITRO DE DIFFERENTES ASSOCIATIONS
D'ANTIBIOTIQUES SUR DES SOUCHES
BACTERIENNES MULTIRESISTANTES**

THESE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement

Le 18 Juillet 2008

Par

M^{lle} Emmanuelle DAOU

Née le 27 Décembre 1984 à Dakar (SENEGAL)

MEMBRES DU JURY

<u>Président :</u>	M. José Marie	AFOUTOU	Professeur
<u>Membres :</u>	M. Cheikh Saad-Bouh BOYE		Professeur
	M. Mamadou	BADIANE	Maître de Conférences Agrégé
	M. Yérém Mbagnick	DIOP	Maître de Conférences Agrégé
<u>Directeur de Thèse :</u>	M. Cheikh Saad-Bouh BOYE		Professeur

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

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

DECANAT & DIRECTION

DOYEN

M. CHEIKH S. B. BOYE

PREMIER ASSESSEUR

M. ABDARAHMANE DIA

DEUXIEME ASSESSEUR

M. MALICK SEMBENE

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

M. AMADOU TIDIANE LY

DAKAR, LE 30 JANVIER 2008

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2007-2008

I. MEDECINE

PROFESSEURS TITULAIRES

M. José Marie	AFOUTOU	Histologie-Embryologie
M. Mamadou	BA	Pédiatrie
M. Mamadou	BA	Urologie
M. Serigne Abdou	BA	Cardiologie
M. Moussa	BADIANE	Radiologie
M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neurochirurgie
M. Cheikh Ahmed Tidiane	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
M. Fallou	CISSE	Physiologie
M. Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
M. Abdarahmane	DIA	Anatomie-Chirurgie Générale
M. Baye Assane	DIAGNE	Urologie
*M. Mame Thierno	DIENG	Dermatologie
M. Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M. Bernard Marcel	DIOP	Maladies Infectieuses
*M. EL Hadj Malick	DIOP	O-R-L
MmeThérèse MOREIRA	DIOP	Médecine Interne
M. Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Boucar	DIOUF	Néphrologie
M. Raymond	DIOUF	O.R.L
M. Souvasin	DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
M. Babacar	FALL	Chirurgie Générale
M. Ibrahima	FALL	Chirurgie Pédiatrique
Mme Sylvie SECK	GASSAMA	Biophysique
M. Oumar	GAYE	Parasitologie
M. Lamine	GUEYE	Physiologie
M. Momar	GUEYE	Psychiatrie
*M. Serigne Maguèye	GUEYE	Urologie
M. Abdoul Almamy	HANE	Pneumophthisiologie
*M. Mamadou Mourtalla	KA	Médecine Interne
M. Abdoul	KANE	Cardiologie
M. Victorino	MENDES	Anatomie Pathologique
M. Jean Charles	MOREAU	Gynécologie-Obstétrique
M. Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie-Orthopédie-Traumato
M. Bassirou	NDIAYE	Dermatologie
*M. Madoune Robert	NDIAYE	Ophtalmologie
M. Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie Thoracique&Cardio-vasculaire
M. Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
Mme Mbayang NIANG	NDIAYE	Physiologie
M. Papa Amadou	NDIAYE	Ophtalmologie
*M. Mamadou	NDOYE	Chirurgie Infantile
*M. Youssooupha	SAKHO	Neurochirurgie
Mme Bineta KA	SALL	Anesthésie-Réanimation
M. Mohamadou Guélaye	SALL	Pédiatrie
M. Niama DIOP	SALL	Biochimie Médicale
M. Abdoulaye	SAMB	Physiologie
M. Abibou	SAMB	Bactériologie-virologie

M. Mamadou		SARR	Pédiatrie
M. Moustapha		SARR	Cardiologie
§Mme Awa Marie	COLL	SECK	Maladies Infectieuses
M. Cheickna		SYLLA	Urologie
M. Seydina Issa Laye		SEYE	Orthopédie-Traumatologie
*M. Masserigne		SOUMARE	Maladies Infectieuses
M. Abdourahmane		SOW	Maladies Infectieuses
M. Ahmad Iyane		SOW	Bactériologie-Virologie
M. Housseyn Dembel		SOW	Pédiatrie
M. Mamadou Lamine		SOW	Médecine Légale
*M. Pape Salif		SOW	Maladies Infectieuses
Mme.Haby	SIGNATE	SY	Pédiatrie
M. Mouhamadou Habib		SY	Orthopédie-Traumatologie
M. Doudou		THIAM	Hématologie
*M. Cheikh Tidiane		TOURE	Chirurgie Générale
M. Meïssa		TOURE	Biochimie Médicale
M. Alassane		WADE	Ophtalmologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mme Mariame	GUEYE	BA	Gynécologie-Obstétrique
M. Momar Codé		BA	Neurochirurgie
M. Boubacar		CAMARA	Pédiatrie
M. Jean Marie		DANGOU	Anatomie et Cytologie Patholog.
Mme Anta	TAL	DIA	Médecine Préventive
*M. Ibrahima		DIAGNE	Pédiatrie
*M. Massar		DIAGNE	Neurologie
M. Bay Karim		DIALLO	O.R.L
M. Djibril		DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
*+M. Issakha		DIALLO	Santé Publique
M. Yémou		DIENG	Parasitologie
M. El Hadj Ibrahima		DIOP	Orthopédie-Traumatologie
M. Ibrahima Bara		DIOP	Cardiologie
M. Mamadou		DIOP	Anatomie
M. Saïd Norou		DIOP	Médecine Interne
M. Saliou		DIOP	Hématologie
Mme. Elisabeth		DIOUF	Anesthésiologie-Réanimation
Mme Fatou	SENE	DIOUF	Neurologie
M. Mamadou Lamine		DIOUF	Hépatologie / Gastro-Entérologie
M. Saliou		DIOUF	Pédiatrie
M. Pape Ahmed		FALL	Urologie
§ Mme. Mame Awa		FAYE	Maladies Infectieuses
M. Oumar		FAYE	Parasitologie
Mme Gisèle	WOTO	GAYE	Anatomie Pathologique
M. Assane		KANE	Dermatologie
M. Oumar		KANE	Anesthésie-Réanimation
*M. Mouhamadou		MBENGUE	Hépatologie / Gastro-Entérologie
*M. Claude		MOREIRA	Pédiatrie
M. Issa		NDIAYE	O.R.L
M. Ousmane		NDIAYE	Pédiatrie
*M. Cheikh Tidiane		NDOUR	Maladies Infectieuses
M. Alain Khassim		NDOYE	Urologie
M. Oumar		NDOYE	Biophysique

M. Abdou	NIANG	CM / Néphrologie
M. El Hadji	NIANG	Radiologie
M. Abdoulaye	POUYE	CM / Médecine Interne
M. Moussa	SEYDI	Maladies Infectieuses
M. EL Hassane	SIDIBE	Endocrinologie-Métabolisme
M. Omar	SYLLA	Nutrition-Diabétologie
M. Alé	THIAM	Psychiatrie
		Neurologie

MAITRES-ASSISTANTS

Mme Fatou Diallo		AGNE	Biochimie Médicale
Mme Aïssata	LY	BA	Radiologie
M. EL Hadj Amadou		BA	Ophtalmologie
Mme Ndèye Méry DIA		BADIANE	Maladies Infectieuses
M. Mamadou Diarrah		BEYE	Anesthésie-Réanimation
M. El Hadj Souleymane		CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
Mme. Mariama Safiétou	KA	CISSE	Médecine Interne
M. André Vauvert		DANSOKHO	Orthopédie-Traumatologie
M. Ahmadou		DEM	Cancérologie
M. Saïdou		DIALLO	Rhumatologie
* M. Babacar		DIAO	Urologie
M. Maboury		DIAO	Cardiologie
M. Alassane		DIATTA	Biochimie Médicale
M. Charles Bertin		DIEME	Orthopédie-traumatologie
M. Madieng		DIENG	Chirurgie Générale
Mme. Sokhna	BA	DIOP	Radiologie
Mme Awa Oumar	TOURE	FALL	Hématologie
Mme Mame Coumba	GAYE	FALL	Médecine Légale
M. Oumar		FAYE	Histologie-Embryologie
Mme Ndèye Ramatoulaye		DIAGNE	Pédiatrie
M. EL Hadj Fary		KA	Clinique Médicale/Néphrologie
*M. Abdoul Aziz		KASSE	Cancérologie
M. Ibrahima		KONATE	Chirurgie Générale
M. Abdoulaye		LEYE	Clinique Médicale / Médecine Interne
Mme Aminata	DIACK	MBAYE	Pédiatrie
+ M. Ismaïla		MBAYE	Médecine du Travail
Mme Ndèye Maïmouna	NDOUR	MBAYE	Médecine Interne
M. Mamadou		MBODJ	Biophysique
M. Philipe Marc		MOREIRA	Gynécologie
M. Moustapha		NDIAYE	Neurologie
*M. Papa		NDIAYE	Médecine Préventive
M. Jean Marc Ndiaga		NDOYE	Anatomie
Mme Marie	DIOP	NDOYE	Anesthésie-Réanimation
M. Ndaraw		NDOYE	Neurochirurgie
M. Gabriel		NGOM	Chirurgie Générale
Mme Suzanne Oumou		NIANG	Dermatologie
Mme Paule Aïda	NDOYE	ROTH	Ophtalmologie
Mme Anne Aurore		SANKALE	Chirurgie Générale
Mme Anna		SARR	Médecine Interne
M. Doudou		SARR	Psychiatrie
M. Ndéné Gaston		SARR	Biochimie Médicale
M. Amadou Makhtar		SECK	Psychiatrie

M. Gora		SECK	Physiologie
Mme Hassanatou	TOURE	SOW	Biophysique
Mme Aïda		SYLLA	Psychiatrie
M. Abdourahmane		TALL	O.R.L
M. Mamadou Habib		THIAM	Psychiatrie
M. Silly		TOURE	Stomatologie
Mme Aïssatou Magatte		WANE	Ophtalmologie
M. Issa		WONE	Médecine Préventive

ASSISTANTS

Mme Nafissatou Ndiaye		BA	Anatomie Pathologique
M. Boubacar Samba		DANKOKO	Médecine Préventive
M. Chérif Mohamed Moustapha		DIAL	Anatomie Pathologique
Mme Abibatou Sall		DIALLO	Hémato-immunologie
M. Abdoulaye Séga		DIALLO	Histologie-Embryologie
M. Dialo		DIOP	Bactériologie-Virologie
M. Babacar		FAYE	Parasitologie
Mme Roughyatou		KA	Bactériologie – Virologie
M. Aïnina		NDIAYE	Anatomie
M. Assane		NDIAYE	Anatomie
M. Jean Louis Abdourahim		NDIAYE	Parasitologie
M. Mor		NDIAYE	Médecine du Travail
M. Boucar		NDONG	Biophysique
Mme Fatou Bintou	SAR	SARR	Physiologie
*M. Ibrahima		SECK	Médecine Préventive
M. Mohamed Naniboliot		SOUMAH	Médecine légale
M. Kamadore		TOURE	Médecine Préventive

CHEFS DE CLINIQUE-ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

M. Idrissa	BA	Pédopsychiatrie
M. Amadou Gabriel	CISS	Chirurgie Thoracique & Cardio. Vasc.
M. Mamadou Lamine	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
Mme Mame Salimata DIENE	COLY	Neurochirurgie
M. Mamadou	COUME	Médecine Interne
M. Abdoulaye	DANFA	Psychiatrie
M. Daouda	DIA	Médecine Interne I
M. Mohamed Tété Etienne	DIADHIOU	Gynécologie-Obstétrique
M. Oumar	DIARRA	Chirurgie Thoracique & Cardio- Vasculaire
M. Ansoumana	DIATTA	Pneumophtisiologie
*M. Mamadou Moustapha	DIENG	Cancérologie
Mme Seynabou FALL	DIENG	Médecine Interne I
*Mme Marie Edouard Faye	DIEME	Gynécologie Obstétrique
M. Abdoulaye Ndoeye	DIOP	Radiodiagnostic
M. Pape Saloum	DIOP	Chirurgie Générale
M. Rudolph	DIOP	Stomatologie
M. Sylvie Audrey G.	DIOP	Maladies infectieuses
M. Amadou Lamine	FALL	Pédiatrie
M. Boubacar	FALL	Urologie
M. Lamine	FALL	Pédopschyatrie
M. Pape Macoumba	GAYE	Cancéro-radiothérapie
M. Serigne Modou Kane	GUEYE	Gynécologie-Obstétrique

M.	Ousmane	KA	Chirurgie Générale
M.	Adama	KANE	Cardiologie
Mme	Yacine Dia	KANE	Pneumophtisiologie
Mme	Fatimata	LY	Dermatologie
M.	Noël Magloire	MANGA	Maladies Infectieuses
M.	Alassane	MBAYE	Cardiologie
M.	Amadou Koura	NDAO	Neurologie
*M.	Malick	NDIAYE	O.R.L.
M.	Mouhamadou Bamba	NDIAYE	Cardiologie
M.	Papa Ibrahima	NDIAYE	Anesthésie Réanimation
*M.	Souhaïbou	NDONGO	Médecine Interne
M.	Oumar	NDOUR	Chirurgie Pédiatrique
M.	Lamine	NIANG	Urologie
Mme	Marguerite Edith D.	QUENUM	Ophtalmologie
M.	André Daniel	SANE	Orthopédie-Traumatologie
M.	Jean Claude François	SANE	Orthopédie-Traumatologie
Mme	Lala Bouna	SECK	Neurologie
M.	Moussa	SECK	Hématologie
Mme	Fatou Samba D. NDIAYE	SENE	Médecine Interne
M.	Assane	SYLLA	Pédiatrie
M.	Alioune Badara	THIAM	Neurochirurgie
Mme	Nafissatou Oumar	TOURE	Pneumologie

ATTACHE-ASSISTANT

Mme Marie Joseph

DIEME

Anatomie Pathologique

† disponibilité

* Associé

§ Détachement

II. PHARMACIE

PROFESSEURS TITULAIRES

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

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. Mounirou	CISS	Toxicologie
Mme Aminata SALL	DIALLO	Physiologie Pharmaceutique
M. Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
* M. Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Tandakha Ndiaye	DIEYE	Immunologie
M. Yérim Mbagnick	DIOP	Chimie Analytique
M. Bara	NDIAYE	Chimie Analytique
Mme Philomène LOPEZ	SALL	Biochimie Pharmaceutique
M. Guata yoro	SY	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique

MAITRES-ASSISTANTS

Melle Issa Bella	BAH	Parasitologie
Melle Thérèse	DIENG	Parasitologie
M. Djibril	FALL	Pharmacie Chimique & Chimie Orga.
M. Mamadou	FALL	Toxicologie
M. Modou	LO	Botanique
Mme Aïssatou GUEYE	NDIAYE	Bactériologie-Virologie
M. Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
*M. Mamadou	NDIAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
Mme. Maguette D.SYLLA	NIANG	Biochimie Pharmaceutique
Mme Rita B.	NONGONIERMA	Pharmacognosie
M. Mamadou	SARR	Physiologie Pharmaceutique
M. Matar	SECK	Pharmacie Chimique et Chimie Orga.
M. Alassane	WELE	Chimie Physique

ASSISTANTS

Mme Rokhaya Ndiaye	DIALLO	Biochimie Pharmaceutique
M. William	DIATTA	Botanique

M. Ahmédou Bamba K.	FALL	Pharmacie Galénique
M. Alioune Dior	FALL	Pharmacognosie
* M. Babacar	FAYE	Chimie Générale
M. Modou Oumy	KANE	Physiologie Pharmaceutique
M. Pape Madieye	GUEYE	Biochimie Pharmaceutique
M. Gora	MBAYE	Physique Pharmaceutique
M. Babacar	MBENGUE	Immunologie
* Mme Halimatou Diop	NDIAYE	Bactériologie - Virologie
M. Daouda	NDIAYE	Parasitologie
M. Idrissa	NDOYE	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Serigne Omar	SARR	Chimie Analytique & Bromatologie
M. Awa NDIAYE	SY	Pharmacologie

ATTACHES

Mme Kady Diatta	BADJI	Botanique
M. Adama	DIEDHIOU	Chimie Thérapeutique & Organique
M. Amadou	DIOP	Chimie Analytique
M. Louis Augustin D.	DIOUF	Physique Pharmaceutique
M. Djiby	FAYE	Pharmacie Galénique
M. Mathilde M. P. Cabral	NDIOR	Toxicologie

* Associé

+ disponibilité

III. CHIRURGIE DENTAIRE

PROFESSEUR TITULAIRE

*M. Boubacar	DIALLO	Chirurgie Buccale
M. Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
§ Mme Ndioro	NDIAYE	Odontologie Préventive et Sociale
M. Malick	SEMBENE	Parodontologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

*M. Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
M. Abdoul Wakhabe	KANE	Odontologie Cons. Endodontie
§ Mme Charlotte FATY	NDIAYE	Chirurgie Buccale

MAITRES ASSISTANTS

Mme Aïssatou TAMBA	BA	Pédodontie-Prévention
Mme Khady DIOP	BA	Orthopédie Dento-Faciale
M. Henri Michel	BENOIST	Parodontologie
M. Daouda	CISSE	Odontologie Prév. et Sociale
Mme Adam Marie SECK	DIALLO	Parodontologie
Mme Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M. Malick	FAYE	Pédodontie
Mme Fatou	GAYE	Odontologie Cons. Endodontie
* M. Pape Ibrahima	NGOM	Orthopédie Dento Faciale
*M. Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire
Mme Soukèye DIA	TINE	Chirurgie Buccale
M. Babacar	TOURE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Abdoul Aziz	YAM	Pédodontie-Prévention

ASSISTANTS

M. Abdou	BA	Chirurgie Buccale
M. Khaly	BANE	O.C.E.
Mme Bineta Cathérine GASSAMA BARRY		Chirurgie Buccale
*M. Khalifa	DIENG	Odontologie Légale
*M. Lambane	DIENG	Prothèse Dentaire
M. Abdoulaye	DIOUF	Parodontologie
M. Massamba	DIOUF	Odontologie Prév. et Sociale
M. Joseph Samba	DIOUF	Odontologie Dento-Faciale
M. Babacar	FAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M. Daouda	FAYE	Odontologie Prév. et Sociale
M. Papa Abou	LECOR	Matières Fondamentales
Mme Fatou	LEYE	O.C.E.
M. Cheikh Mouhamadou	LO	Odontologie Prév. Sociale
*M. Malick	MBAYE	Odontologie Cons. Endodontie

M. El Hadj Babacar	MBODJ	Prothèse Dentaire
M. Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
M. Cheikh	NDIAYE	Prothèse Dentaire
M. Paul Débé	NIANG	Chirurgie Buccale
Mme Farimata youga DIENG	SARR	Matières Fondamentales
M. Mouhamed	SARR	Odontologie Cons. Endodontie
M. Babacar	TAMBA	Chirurgie Buccale
M. Saïd Nourou	TOURE	Prothèse Dentaire

ATTACHES

Mme Mame Coumba	GUEYE	Odontologie Pédiatrique
M. Oumar Harouna	SALL	Matières Fondamentales

* Associé

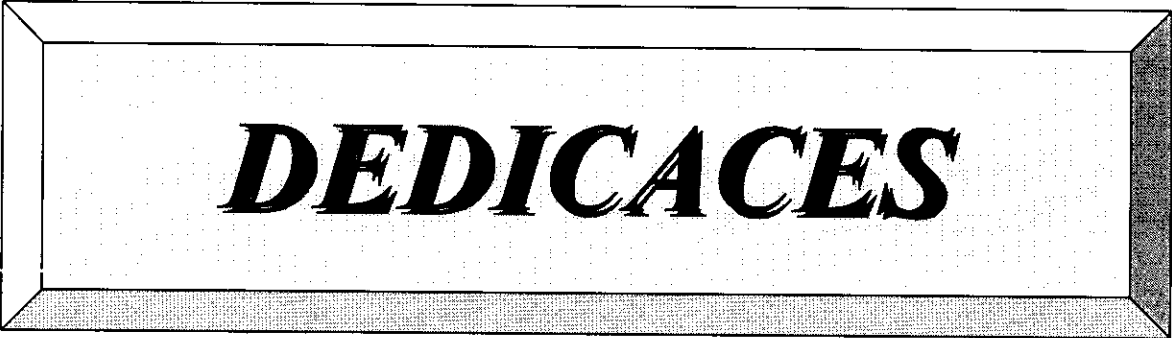
§ Détachement

« Mon âme exalte le Seigneur,

Exulte mon esprit en Dieu mon Sauveur (...)

Le Puissant fit pour moi des merveilles, Saint est son nom »

Luc 1



DEDICACES

IN MEMORIUM

A mes grands-parents paternels

Dix ans maintenant qu'un vide subsiste que rien ne peut combler dans mon cœur... En ce jour si spécial pour moi, c'est difficile de ne pas vous avoir à mes côtés et vous serrer dans mes bras. Cependant, je me console en pensant à toutes ces bénédictions qui irradient vers nous depuis votre petit coin de paradis. Sachez que chacune de mes réussites vous est dédiée depuis toujours.

Ce modeste travail est pour vous Téta et Jiddo.

A mon grand-père maternel

Pour ton amour des études Jiddo, toi qui me confiais à Saint Nicolas avant chaque examen, pour tes prières et tes bénédictions, pour tes sourires pleins d'innocence à chacune de mes réussites.... Tu me manques et ce travail t'est dédié !

A mes parents chéris

En un jour pareil, aucun mot ne suffira pour vous témoigner mon amour et ma reconnaissance infinie, car sans vous, je ne serais rien...

A mon papa, ce grand homme

Tu ne t'es jamais ménagé pour notre réussite et notre bonheur. Ton humilité, ta droiture, ton sens de l'honneur et du travail m'ont toujours marqué.

Saches que tu es ma référence et j'espère un jour, pouvoir acquérir le quart de tes qualités.

Merci pour tous tes sacrifices, pour tes encouragements permanents... merci de m'avoir permis de marcher la tête haute. Ce travail est le tiens ! Je t'aime !

A ma maman adorée

« Derrière chaque grand homme se cache une femme »

Mamito, je serai tentée de dire qu'aucune femme ne t'arrive à la cheville...

Dieu seul peut témoigner de l'acharnement et des sacrifices fournis pour la réussite de tes enfants qui a toujours été ton souci majeur. Merci pour tes prières, ton soutien constant, merci d'avoir toujours été là dans les épreuves les plus dures et de ne jamais t'être avouée vaincue lorsque souvent, j'ai voulu baisser les bras....

Merci d'être tout simplement TOI, MERCI MAMAN ! Trouve en ce modeste travail, le pâle reflet de tes efforts.... Je t'aime !

Je ne remercierai jamais assez l'Eternel de vous avoir...

Qu'il vous bénisse sans cesse et vous accorde longue vie !

A mon bébé Pauli

Petit frère chéri, tu as grandi... si tu savais comme j'aimerais toujours marcher devant toi pour t'éviter les pierres de la vie...

Merci pour ta confiance et ton admiration, pour ton amour et pour tout ce que tu représentes à mes yeux...

Je te souhaite le parcours le plus prestigieux qui puisse exister sur terre. Que Dieu te protège petit ange et qu'Il t'accorde cette grâce que je vis aujourd'hui.

Cette thèse est pour toi ! Je t'aime !

A ma grand-mère maternelle

Que dire Téta.... Merci ne suffirait pas pour t'exprimer tout ce que j'ai sur le cœur. Tu as toujours été là pour moi, soucieuse, préoccupée, attristée de ne plus savoir comment me faire plaisir ! Je ne te remercierai jamais assez de m'avoir inculqué la foi en Dieu, la conviction religieuse et les vraies valeurs de la vie.

Cette thèse est l'aboutissement de tes conseils, prières et bénédictions....

Que le Tout Puissant t'accorde une santé de fer et une longue vie, Je t'aime !

A ma tante Anne-Marie chérie

Tati...les mots me manquent aujourd'hui pour t'exprimer ma profonde gratitude...

Toujours attentionnée, maternelle, tu n'as jamais failli à ton devoir de marraine !

En ce jour si spécial, saches que c'est moi qui suis fière d'être ta nièce, fière de toutes ces valeurs humaines qu'à toi seule tu incarnes.

Pour avoir largement contribué à ce que je suis aujourd'hui et en témoignage de mon amour, je te dédie cette thèse ! Que la Miséricorde Divine inonde ta vie !

Je t'aime !

A ma seconde maman Fatou

Depuis toujours, tu représentes l'une des personnes les plus chères à nos yeux.
Merci pour l'amour, la protection et l'instinct maternel que tu as manifesté envers nous depuis notre naissance... nous, les seuls enfants que la vie t'ai jamais donné.
Que Dieu te garde longtemps près de nous.
Cet humble travail t'est dédié, je t'aime !

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

C'est ainsi que je dédie cette thèse :

A toute ma famille !

A mes amis !

A mes collègues !

A tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à son élaboration !

Spéciale dédicace à la Promotion « *Yérím Mbagnick Díop 2007* », tout particulièrement à mon binôme et frère de galère Soum, à Steve, Eloi, Malick, Odette, Mado, Emma et tant d'autres !

SINCERES REMERCIEMENTS

A tous mes Maîtres

Merci de votre enseignement !

A mon aînée, ma grande sœur **Dr Mame Fatou Sow**

Merci du fond du cœur !

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

Aristide Le Dantec, particulièrement Mme Thiam, Amadou, Assane, tonton Omar, Michel et Djiby.

A tout le personnel du **Laboratoire National de Contrôle des Médicaments**,

spécialement Doudou, Mme Ndack et Mme Ndour.

A tout le personnel du **Laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital**

Aristide Le Dantec.

Vous m'avez tous aidée d'une manière ou d'une autre, soyez tous assurés de ma reconnaissance !

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président de Jury

Monsieur le Professeur José Marie AFOUTOU

Vous nous avez fait l'honneur de présider notre jury de thèse malgré vos nombreuses occupations. La courtoisie, la gentillesse, l'humilité et les compétences que vous incarnez font de vous un modèle. Veuillez accepter, cher Maître, nos sincères remerciements ainsi que nos hommages respectueux.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Mamadou BADIANE

Nous sommes sensibles au privilège que vous nous faites en acceptant avec enthousiasme de siéger dans notre jury de thèse. Nous avons toujours été séduits par votre simplicité, votre générosité dans le partage du savoir et votre amabilité qui font de vous un Professeur aimé et qui nous servira toujours d'exemple. Veuillez trouver ici, cher Maître, l'expression de nos sentiments les meilleurs.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Yérin Mbagnick DIOP

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce modeste travail nous réjouit. Votre disponibilité à notre égard, le caractère paternel avec lequel vous nous avez toujours reçu, nous ont profondément touché, ceci en plus de vos nombreuses qualités humaines et intellectuelles qui forcent notre admiration. Soyez assuré, cher Maître, de notre estime et de notre très sincère reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur Cheikh Saad-Bouh BOYE

Nous ne saurions exprimer toute notre gratitude...L'élève que nous sommes ne peut que reconnaître la grandeur de son Maître. Cette année passée à vos côtés nous a permis de nous perfectionner, de développer notre esprit scientifique et d'apprécier encore plus la bactériologie. Vous nous avez inspiré dans ce travail et vous nous avez guidés dans sa réalisation malgré vos nombreuses tâches. Votre rigueur, votre sens de la méthode mais aussi la patience et la compréhension dont vous avez fait preuve, nous ont beaucoup marqués. Pouvons nous à travers cet humble travail, vous témoigner l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre fidélité à vos idéaux.

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

PLAN

INTRODUCTION	1
--------------------	---

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I. LA MULTIRESISTANCE BACTERIENNE	4
---	---

I.1. Rappel sur les constituants de la bactérie	4
---	---

I.1.1 Les éléments constants	4
------------------------------------	---

I.1.1.1 La paroi.....	4
-----------------------	---

I.1.1.2 Le noyau.....	5
-----------------------	---

I.1.1.3 Le cytoplasme.....	5
----------------------------	---

I.1.2 Les éléments inconstants ou facultatifs.....	5
--	---

I.1.2.1 La capsule.....	5
-------------------------	---

I.1.2.2 Les pili.....	5
-----------------------	---

I.1.2.3 Les spores.....	6
-------------------------	---

I.1.2.4 Les plasmides.....	6
----------------------------	---

I.2. Rappel sur la génétique bactérienne.....	7
---	---

I.2.1 Mutation.....	7
---------------------	---

I.2.2 Les modifications génotypiques par transfert de matériel génétique	7
--	---

I.2.2.1 La transformation.....	7
--------------------------------	---

I.2.2.2 La conjugaison.....	8
-----------------------------	---

I.2.2.3 La transposition.....	8
-------------------------------	---

I.2.3 Les échanges génétiques avec un intermédiaire.....	9
--	---

I.2.3.1 La transduction.....	9
I.2.3.2 La conversion.....	10
I.3. Les mécanismes de la résistance.....	10
I.3.1 Notion de résistance.....	10
I.3.2 Les différents types de résistance.....	11
I.3.2.1 La résistance naturelle.....	11
I.3.2.2 La résistance acquise.....	12
I.3.2.3 La résistance clinique.....	12
I.3.3 Le support génétique de la résistance.....	13
I.3.3.1 La résistance chromosomique.....	13
I.3.3.2 La résistance extrachromosomique.....	14
I.3.4 Les mécanismes de résistance aux Bêta-lactamines.....	15
I.3.4.1 La résistance par production d'enzymes.....	16
I.3.4.2 La résistance non enzymatique aux Bêta-lactamines.....	27
I.3.5 La résistance aux Aminosides.....	32
I.3.5.1 La résistance naturelle.....	32
I.3.5.2 La résistance acquise.....	33
I.3.5.3 La notion de Haut Niveau de Résistance aux Aminosides (HNR).....	35
I.3.6 La résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines.....	36
I.3.6.1 La résistance acquise.....	36
I.3.7 La résistance aux Quinolones.....	37
I.3.8 La résistance aux Tétracyclines.....	38
I.3.9 La résistance aux Phénicolés.....	39
I.3.10 La résistance aux Sulfamides et au Triméthopprime.....	40
I.3.10.1 La résistance naturelle.....	40

I.3.10.2 La résistance acquise.....	40
I.3.11 La résistance à la Vancomycine.....	41
I.3.12 La méthicillino-résistance (ou Oxacilline et dérivés).....	42
II. ASSOCIATION D'ANTIBIOTIQUES EN THERAPEUTIQUE ANTI-INFECTIEUSE.....	43
II.1. Le choix des associations d'antibiotiques.....	47
II.1.1 Choix en fonction du germe.....	47
II.1.2 Autres critères de choix.....	47
II.2. Définition des interactions.....	47
II.3. Méthodes d'étude des associations d'antibiotiques.....	49
II.3.1 Les techniques d'étude par diffusion.....	49
II.3.2 Les techniques d'étude par dilution en milieu liquide.....	50
II.3.2.1 Technique simplifiée pour la pratique clinique.....	50
II.3.2.2 Technique de « l'Echiquier ».....	51
III. LE CONTROLE DE QUALITE ET LA VALIDATION.....	51
III.1. Le contrôle de qualité.....	51
III.2. La validation.....	53
III.2.1 Procédures de validation.....	53
III.2.2 Définitions de quelques paramètres de validation.....	53
 DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL	
I. MATERIEL ET MILIEUX.....	58
I.1. Matériel.....	58
I.1.1 Cadre d'étude.....	58
I.1.2 Souches bactériennes.....	58

I.1.3 Matériel de laboratoire.....	59
I.2. Milieux de culture et réactifs.....	61
I.2.1 Milieux de culture.....	61
I.2.2 Réactifs.....	64
II. STANDARDISATION.....	66
II.1. Contrôle des souches.....	66
II.2. Contrôle des milieux.....	68
II.3. Antibiogrammes de contrôle.....	69
III. METHODE.....	71
III.1. Apprêtement des microplaques de sensibilité.....	71
III.2. Préparation de l'inoculum.....	72
III.3. Ensemencement des plaques.....	73
III.4. Résultat et interprétation.....	74
III.4.1 Lecture.....	74
III.4.2 Interprétation.....	75
III.5. Données de l'étude.....	77
III.5.1 Définition des variables.....	77
III.5.2 Mode de recueil des données.....	78
III.5.3 Circuit de l'information.....	78
III.5.4 Analyse des données.....	78

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET COMMENTAIRES

I. RESULTATS DES CONTROLES	79
I.1. Tests de stérilité.....	79
I.1.1 Milieux de culture.....	79

I.1.2 Tampons.....	79
I.2. Tests d'efficacité.....	79
I.3. Antibiotogrammes de contrôle.....	80
II. SENSIBILITE DES SOUCHES AUX DIFFERENTS	
ANTIBIOTIQUES UTILISES.....	81
III. PROFIL DE SENSIBILITE AUX DIFFERENTES	
ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES.....	84
III.1. Sensibilité de <i>S. aureus</i> aux différentes associations d'antibiotiques	85
III.2. Sensibilité d' <i>E. faecalis</i> aux différentes associations d'antibiotiques	86
III.3. Sensibilité de <i>S.typhi</i> aux différentes associations d'antibiotiques	87
III.4. Sensibilité d' <i>E.cloacae</i> aux différentes associations d'antibiotiques	88
III.5. Sensibilité d' <i>E.coli</i> aux différentes associations d'antibiotiques	89
III.6. Sensibilité de <i>P.aeruginosa</i> aux différentes associations d'antibiotiques.....	90
III.7. Sensibilité de <i>K.pneumoniae</i> aux différentes associations d'antibiotiques.....	91
III.8. Sensibilité de l'ensemble des souches aux différentes associations d'antibiotiques.....	92
IV. REPETABILITE.....	94
IV.1. Paramètres de répétabilité.....	94
IV.2. Résultats des tests.....	95
IV.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	95
IV.2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	96
IV.2.3 <i>Salmonella typhi</i>	97

IV.2.4 <i>Enterobacter cloacae</i>	98
IV.2.5 <i>Escherichia coli</i>	99
IV.2.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
IV.2.7 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	101

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

I. ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES..... 102

I.1. Association Aminocide – β -lactamine..... 102

I.1.1 Association Aminocide – Céphalosporine de troisième génération 103

I.1.2 Association Aminocide – Pénicilline..... 105

I.2. Association Quinolone – β -lactamine..... 106

II. STANDARDISATION DE L'ETUDE DE LA SENSIBILITE *IN VITRO*..... 107

II.1. Choix de la méthode d'étude..... 107

II.2. Avantages et limites..... 109

II.3. Tests de répétabilité..... 110

CONCLUSION..... 113

BIBLIOGRAPHIE..... 119

ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

AMP	: Ampicilline
AMK	: Amikacine
CIP	: Ciprofloxacin
CRO	: Ceftriaxone
GM	: Gentamicine
CRO-GM	: Ceftriaxone-Gentamicine
CRO-AMK	: Ceftriaxone-Amikacine
CRO-CIP	: Ceftriaxone-Ciprofloxacin
AMP-GM	: Ampicilline-Gentamicine
ATB	: Antibiotique
ATCC	: American Type Culture Collection
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CI	: Concentration Inhibitrice
HNR	: Haut Niveau de Résistance
AM3	: Antibiotic Medium 3
FIC	: Fraction Inhibitory Concentration
FBC	: Fraction Bactericidal Concentration
UFC	: Unité Formant Colonie
Méthi-R	: Méthicilline Résistant
Méthi-S	: Méthicilline Sensible

INTRODUCTION

La large utilisation des médicaments anti-infectieux contre les microorganismes (bactéries, champignons, parasites, virus) a conduit, depuis quelques années, à l'émergence croissante de résistance de ces derniers.

Cette évolution a été particulièrement spectaculaire pour les antibiotiques, ceci depuis une vingtaine d'années.

La prévalence de la résistance bactérienne aux antibiotiques est préoccupante dans les établissements de soins à Dakar et le choix d'antibiotiques efficaces est de ce fait rendu difficile, quand il est encore possible (95). Par ailleurs, l'optimisation de l'utilisation des antibiotiques requiert la recherche d'une efficacité maximale, de conséquences écologiques moindres sur l'évolution des flores bactériennes, d'une faible toxicité et d'un meilleur rapport coût bénéfice.

Ainsi, il a été conçu des procédures d'associations d'antibiotiques, dans le but d'augmenter la bactéricidie, d'élargir le spectre antibactérien, de prévenir l'émergence de mutants résistants, mais également pour palier aux nombreux échecs thérapeutiques dus à la monothérapie (4).

Le critère de choix majeur d'une association est fonction du germe.

C'est ainsi que pour chaque souche, il existe des associations standards :

- Pour les Entérocoques ou les Streptocoques alpha-hémolytiques, il y a les associations suivantes :
 - Pénicilline G + Streptomycine
 - Ampicilline + Gentamicine
 - Céfalotine + Gentamicine (en cas d'allergie aux seules Pénicillines)

- Pour les Staphylocoques, nous notons l'association :
Céfotaxime + Fosfomycine.
- Pour les Entérobactéries, nous choisirons des associations du genre :
Bêta-lactamine + Aminoglycoside, selon la résistance naturelle ou acquise de la souche.
- Pour *Pseudomonas aeruginosa*, nous étudierons des associations types, en fonction des résistances acquises.

Cependant, l'utilisation des associations d'antibiotiques ne connaît pas un grand essor, en cela que les techniques ont été peu validées.

L'objectif de notre travail était donc d'améliorer une procédure d'étude des associations d'antibiotiques :

- d'abord par une analyse de la sensibilité des souches étudiées par rapport aux associations d'antibiotiques ;
- puis de standardiser cette méthode par un contrôle de qualité et par des tests de répétabilité.

Pour ce faire, nous avons réalisé une étude *in vitro* de quatre associations binaires d'antibiotiques qui étaient les suivantes :

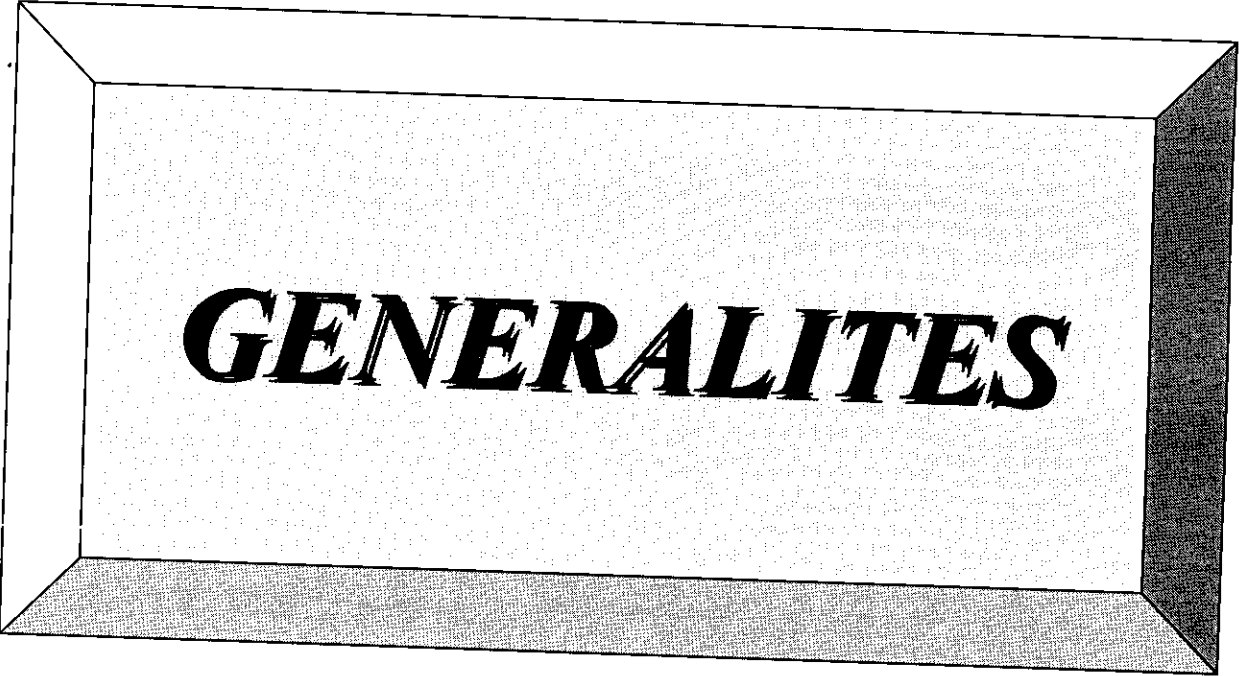
- Ceftriaxone + Gentamicine
- Ceftriaxone + Ciprofloxacine
- Ceftriaxone + Amikacine
- Ampicilline + Gentamicine

Le choix des antibiotiques utilisés a été fait selon :

- la souche bactérienne à tester
- la polyrésistance des souches aux antibiotiques utilisés

Ces associations d'antibiotiques ont été testées sur sept souches bactériennes multirésistantes isolées de divers produits pathologiques.

Les résultats attendus sur la base de protocoles validés, comparés à ceux de la littérature nous permettront de formuler des recommandations quant à l'utilisation des associations d'antibiotiques dans notre contexte sanitaire.



GENERALITES

I. LA MULTIRESISTANCE BACTERIENNE

I.1. Rappel sur les constituants de la bactérie

I.1.1 Les éléments constants

Ces éléments définissent la structure de la bactérie et sont indispensables à sa survie.

Ces structures vitales comprennent les structures d'enveloppe, paroi et membrane cytoplasmique ainsi que l'appareil nucléaire bactérien et les ribosomes dispersés dans le cytoplasme.

I.1.1.1 La paroi

C'est l'enveloppe rigide qui assure l'intégrité de la cellule bactérienne et qui est responsable de la forme des cellules. Elle a une constitution différente selon qu'il s'agit de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif.

Dans les deux cas, la paroi est essentiellement constituée par le peptidoglycane.

Chez les bactéries à Gram positif, d'autres constituants peuvent intervenir notamment les acides téichoïques et lipotéichoïques ; les polysaccharides attachés de manière covalente aux chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane.

Cependant, chez les bactéries à Gram négatif, en plus du peptidoglycane, on observe une membrane externe, un espace périplasmique et une membrane cytoplasmique (82).

I.1.1.2 Le noyau (la taille est ≥ 200 Mégadaltons)

Il est formé d'ADN à 80% et d'ARN ; il porte le patrimoine de la cellule.

I.1.1.3 Le cytoplasme

Il contient des éléments qui jouent un rôle dans la synthèse des protéines (ribosomes, ARNm).

La membrane cytoplasmique contient des perméases et des enzymes qui jouent un rôle dans la respiration.

I.1.2 Les éléments inconstants ou facultatifs

I.1.2.1 La capsule

Quelques groupes de bactéries peuvent, dans certaines conditions de croissance, synthétiser une substance visqueuse qui s'accumule à l'extérieur de la paroi : elle porte le nom de « capsule » quand une couche rigide plus ou moins compacte est étroitement liée à la paroi.

Les bactéries qui la possèdent sont beaucoup plus virulentes. Chez certaines espèces pathogènes, elle représente un facteur de survie ; de plus, elle a un rôle antigénique.

I.1.2.2 Les pili

Ils ne peuvent être mis en évidence qu'en microscopie électronique.

Deux types de pili sont repérables et sont essentiellement présents chez les bactéries à Gram négatif.

- Les pili sexuels

Peu nombreux (un à trois par cellule) et longs (20 à 30 μm), ils jouent un rôle dans les échanges génétiques chez la bactérie.

- Les pili communs

Nombreux (une à plusieurs centaines) et courts ($\leq 1\mu\text{m}$), ils ont un rôle de virulence car ils adhèrent bien à la muqueuse.

I.1.2.3 Les spores

Certaines bactéries ont la propriété de se différencier en forme de survie ou « spores », laquelle différenciation est déclenchée par des modifications de l'environnement.

Les spores sont très résistantes à la température, aux rayonnements, aux agents chimiques et au temps (50).

I.1.2.4 Les plasmides

Constitués d'ADN extrachromosomique, ils portent des caractères de résistance aux antibiotiques et se transmettent d'une espèce à une autre.

Ce sont les différents constituants de la bactérie qui déterminent la résistance dite « acquise ».

I.2. Rappel sur la génétique bactérienne

I.2.1 Mutation

C'est une erreur qui survient lors de la réplication de la transcription de l'ADN chromosomique.

On peut observer au niveau de cet ADN une délétion, une substitution ou une insertion de base qui entraîne une erreur de lecture, avec production d'une protéine non fonctionnelle.

La mutation est un phénomène rare, indépendant de l'antibiotique, spécifique, spontané et héréditaire.

I.2.2 Les modifications génotypiques par transfert de matériel génétique

I.2.2.1 La transformation

Des fragments d'ADN bactérien peuvent pénétrer dans d'autres bactéries et s'intégrer par recombinaison dans leur ADN.

Ce phénomène peut survenir quand la bactérie se trouve dans un état de compétence la rendant perméable à de petits fragments d'ADN.

L'échange de matériel génétique par transformation ne s'effectue qu'entre bactéries de même espèce ou entre espèces apparentées, car des homologies de séquence sont nécessaires au processus de recombinaison.

I.2.2.2 La conjugaison

C'est un transfert d'ADN entre deux bactéries accolées. Le transfert se fait d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice.

La bactérie donatrice exprime à sa surface des structures permettant l'accolement (pili sexuels chez les bacilles à Gram négatif, adhésines chez les Gram positif).

Le transfert se fait de préférence entre des bactéries de même espèce, mais il peut parfois s'effectuer entre des espèces différentes.

C'est par ce phénomène de conjugaison que beaucoup de bactéries peuvent acquérir des caractères de résistance aux antibiotiques.

Certaines bactéries ont, en plus du matériel génétique chromosomique, un matériel génétique intracytoplasmique appelé plasmide, qui porte souvent des caractères de résistance à plusieurs antibiotiques et peut se transmettre d'une espèce bactérienne à une autre.

I.2.2.3 La transposition

On appelle transposon toute séquence d'ADN capable de translocation d'un réplicon sur un autre (transposition intermoléculaire) ou sur un autre site du même réplicon (transposition intramoléculaire) en l'absence d'homologie de séquence, et indépendamment des fonctions de recombinaison réciproque de l'hôte.

Bien que la transposition puisse s'effectuer sur n'importe quel réplicon et pour un réplicon donné en plusieurs sites, il existe pour certains transposons des régions privilégiées d'insertion (points chauds) riches en A-T ou complémentaires des extrémités.

Nous distinguons trois familles de transposons (Tn) :

- famille de Tn
- Tn composites (Gram négatif et Gram positif)
- Tn conjugatifs

La connaissance de la biologie des plasmides et des transposons est indispensable à la compréhension des mécanismes de dissémination de la multirésistance bactérienne aux antibiotiques.

I.2.3 Les échanges génétiques avec un intermédiaire

I.2.3.1 La transduction

C'est le résultat de l'introduction dans une bactérie réceptrice d'un fragment d'ADN issu d'une bactérie donatrice par l'intermédiaire d'un bactériophage.

Ce bactériophage est un virus qui parasite la bactérie.

Si ce bactériophage rencontre une bactérie sensible, il lui injecte son matériel génétique.

La bactérie accueillant l'acide nucléique peut l'intégrer dans son génome. On dit que la bactérie est lysogène. Elle acquiert ainsi de nouvelles propriétés telle que la sécrétion de toxine.

Mais, la bactérie peut aussi rejeter l'acide nucléique du bactériophage et devenir indépendante.

Elle peut aussi tout laisser au bactériophage ; dans ce cas, ce virus se multiplie dans la cellule bactérienne entraînant l'éclatement : c'est le cycle lytique du bactériophage. Dans le cas du cycle lytique, le bactériophage peut apporter avec lui une partie de l'ADN de la bactérie et transmettre ce morceau à

une autre bactérie. C'est ce qu'on appelle la transduction phagique. Cette dernière caractérise aussi la résistance des bactéries.

I.2.3.2 La conversion

Comme la transduction, elle fait intervenir le phage. Mais, contrairement à la transduction :

- Seul le génome du phage intervient ;
- La bactérie réceptrice, pour être convertie, doit toujours conserver tout le génome du prophage : elle doit rester lysogène ;
- Le nouveau caractère obtenu s'exprime dans les 8 à 10 minutes qui suivent la contamination par le phage ;
- La fréquence de la conversion est de 100% : toute bactérie qui reçoit le génome phagique est convertie. La conversion lysogénique a été retrouvée chez les Shigelles et les *Pseudomonas*.

Et c'est d'un phénomène de conversion que dépend la production de toxine par le bacille diphtérique, de toxine érythrogène par les Streptocoques du groupe A et de fibrinolysine par les Staphylocoques.

Ainsi, ce sont surtout les modifications génotypiques qui sont responsables de la résistance acquise des bactéries.

I.3. Les mécanismes de la résistance

I.3.1 Notion de résistance

Pour chaque antibiotique est défini un spectre d'activité, c'est-à-dire l'éventail des espèces bactériennes « sensibles » susceptibles d'être inhibées par

des concentrations de cet antibiotique (surtout *in vivo* après utilisation d'une posologie standard).

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

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

De nombreuses définitions de la résistance bactérienne aux antibiotiques ont été retenues, selon différents critères utilisés.

Selon certains auteurs :

- Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce.
- Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration pouvant être atteinte *in vivo*.
- Une bactérie résiste à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de croître en présence d'une concentration significativement plus élevée de cet antibiotique (74).

I.3.2 Les différents types de résistance (43, 61, 67, 78)

I.3.2.1 La résistance naturelle

C'est une caractéristique propre à l'ensemble des souches d'une même espèce. Elle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce et définit le spectre naturel d'activité d'un antibiotique.

Exemples :

- Les mycoplasmes résistent aux β -lactamines car ils sont dépourvus de parois ;
- La paroi des Streptocoques est imperméable aux Aminosides ;
- La résistance naturelle de *Staphylococcus aureus* et des Entérobactéries aux β -lactamines (Pénicilline G, Ampicilline, Céphalosporines).

I.3.2.2 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. Cette résistance est évolutive et varie en fonction du temps, de l'environnement et des conditions d'utilisation de l'antibiotique.

L'acquisition de cette résistance peut-être due à une modification génétique :

- soit par mutation génétique ;
- soit par apports de matériels génétiques étrangers ;

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.

I.3.2.3 La résistance clinique

Ce type de résistance se traduit par un échec thérapeutique.

Plusieurs facteurs entrent en cause dans ce type de résistance :

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

C'est le terme ultime de l'expression de la résistance, c'est celle qui compte réellement et, c'est elle qu'il convient d'éviter (94).

I.3.3 Le support génétique de la résistance

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué d'une part d'un génophore obligatoire, le chromosome et d'autre part, d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extrachromosomiques, les plasmides.

Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons.

Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extrachromosomique (42).

I.3.3.1 La résistance chromosomique

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

La mutation correspond à une addition, une délétion ou une substitution de bases dont la conséquence est une erreur de lecture du code génétique.

Cette modification entraîne une résistance en :

- rendant la cellule imperméable à ces antibiotiques ;
- rendant les cibles pariétales (Protéines de Liaison à la Pénicilline ou PLP par exemple) ou intracellulaires (ribosomes, ADN gyrase, ARN polymérase), spécifiques de ces antibiotiques, indifférentes à la présence du ou des antibiotiques ;
- codant pour la synthèse d'enzymes inactivantes.

La mutation peut intervenir sur un ou plusieurs loci.

Ce type de résistance est un phénomène spontané, rare (avec une fréquence de mutants dans une population donnée de 10^{-6} à 10^{-9}), indépendant de l'antibiotique qui n'agit qu'en tant qu'agent sélecteur en éliminant les populations sensibles, spécifique, héréditaire et stable (les fréquences de réversion sont équivalentes à celles des mutations), cependant non transmissible en dehors de la progénie.

I.3.3.2 La résistance extrachromosomique

Dans le cas de la résistance extrachromosomique, le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction. Ce type de résistance est très fréquent (plus de 80% des résistances acquises) ; contagieux et se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitantes, même d'espèces différentes; et peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques entraînant une polyrésistance.

La résistance plasmidique concerne la plupart des antibiotiques. Seuls y échappent les Rifamycines, les Polypeptides, les Nitrofuranes, les Quinolones et les Glycopeptides.

Toutes les espèces bactériennes y sont sujettes.

L'usage d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène du plasmide sélectionne les souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance se trouve sur le plasmide, ce qui entraîne la sélection rapide de souches polyrésistantes (7).

I.3.4 Les mécanismes de résistance aux Bêta-lactamines

Les β -lactamines constituent la principale famille d'antibiotiques utilisée en thérapeutique.

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

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

- L'imperméabilité de la paroi bactérienne à l'antibiotique ;
- L'inactivation de la molécule par une enzyme ouvrant le cycle β -lactame ;
- La modification de l'affinité des PLP pour l'antibiotique ;

La fréquence de ces mécanismes de résistance est différente (TABLEAU I).

TABLEAU I: Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux β -lactamines (109)

Mécanismes	Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram -
Production d'une β -lactamase	+	+++
Imperméabilité de la paroi	-	++
Modification des PLP	+++	+

I.3.4.1 La résistance par production d'enzymes (3, 19)

Ce mécanisme de résistance est le plus largement distribué parmi les nombreuses espèces bactériennes, et consiste en la production d'enzymes capables d'inactiver les β -lactamines.

Plusieurs types d'enzymes peuvent être à l'origine de l'inactivation de ces antibiotiques.

La production de β -lactamases s'est observée chez presque toutes les espèces bactériennes (27).

❖ Les β -lactamases

Elles se définissent comme étant des enzymes d'inactivation du cycle β -lactame.

Dès 1940, la découverte d'extraits bruts de bacilles à Gram négatif (*Bacterium coli*) inactivant la Benzylpénicilline démontra l'existence d'un mécanisme de résistance par synthèse de « pénicillinase ».

Ce n'est qu'en 1960 que le terme « β -lactamase » fut proposé.

En 1944, la pénicillinase de *Staphylococcus aureus* sera mise en évidence, après quoi l'émergence de résistances enzymatiques s'est poursuivie.

La diversité des β -lactamases oblige à une identification de plus en plus précise, permettant une meilleure classification.

Ainsi, selon :

- leurs propriétés physico-chimiques,
- la nature de leurs inhibiteurs,
- leur localisation génétique (plasmide ou chromosome),
- leurs hôtes habituels,
- la séquence nucléotidique de leurs gènes ou leurs compositions en acides aminés,
- leurs localisations bactériennes (exocellulaires ou périplasmiques) (20,89),
- leurs affinités pour différents substrats (β -lactamines), plusieurs classifications des β -lactamases ont été proposées.

La plus utilisée est celle de RICHMOND et SYKES (TABLEAU II). Mais il existe une classification des β -lactamases à large spectre déjà connue, modifiée par PAYNE et AMYES et reproduite dans le TABLEAU III.

Ainsi, de manière schématique, les β -lactamases peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases.

TABLEAU II : Classification de RICHMOND et SYKES des β -lactamases des bactéries à Gram négatif (85)

Médiation	Type	Classe	Inductibilité	Activité préférentielle Péni CSP		Inhibée par Cloxa PCMB		Principaux germes
Chr	Case	Ia	I	-	+++	S	R	<i>Enterobacter</i> <i>Citrobacter</i>
Chr	Case	Ib	C	-	+	S	R	<i>Escherichia coli</i>
Chr	Case	Ic	I	-	++	S	R	<i>Proteus vulgaris</i>
Chr	Case	Id	I	-	+	S	R	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>
Chr	Pase	II	C	++	-	S	R	<i>Proteus mirabilis</i>
Pl	Case	III	C	+++	+	S	R	Médiation plasmidique (type TEM)
Chr	Case	IV	C	+	+	R	S	<i>Klebsiella species</i>
Pl	Pase	V	C	++	-	R	S	Médiation plasmidique type OXA, PSE

Chr : Chromosomique

Case : Céphalosporinase

S: Sensible

I: Inductible

Pl : Plasmidique

Pase : Pénicilline

R: Résistant

C: Constitutive

TABLEAU III: Classification déjà connue des β -lactamases à large spectre modifiée par PAYNE ET AMYES (88)

GROUPES	NOMS	ANNEES	REF
1	TEM-E1	1987	67
	TEM-E2	1982	66
« WEAK CEFOTAXIMASES »	TEM-E4	NS	63
	TEM-7	NS	41
	CAZ-3	1987	82
	CAZ-10	1988	
2	TEM-E3	1987	64
	TEM-6	1986	6
« CEFTAZIDIMASES »	TEM-9	NS	
	TEM-10	1988	70
	CAZ-3	1988	
	CAZ-HI	1988	
3a	TEM-E3	1984	83
	TEM-E4	1986	62
« STRONG CEFOTAXIMASES »	TEM-5	1987	68
	CAZ-2	1987	23
TEM-DERIVED	CAZ-6	1988	23
3b	SHV-2	1983	49
	SHV-3	1985	46
« STRONG CEFOTAXIMASES »	SHV-4	1987	
SHV-DERIVED	SHV-5	1987	40
3c			
« STRONG CEFOTAXIMASES »	FEC-1	NS	52
UNKNOWN-DERIVED	DJP-1	1988	65
4	BIL-1	1989	95
« BROAD SPECTRUM CEFALOSPORINASE » CLAVULANIC ACID			
	FUR	1988	35
	MJ-1	NS	35
NOT BEING GROUPED	MJ-2	NS	35
	UNAMED-1	1986	31
	UNAMED-2	1986	85

TEM : Du nom du malade chez qui, la première souche porteuse de ce type d'enzyme, a été isolée.

SHV : Sulfhydryl – variable

OXA : Hydrolysant l'Oxacilline ;

PSE : Pseudomonas Specific Enzyme

Dans ces groupes, des variants sont différenciés par des indices numériques, ainsi quelques exemples de β -lactamases de bacilles à Gram négatif :

- TEM 1 à TEM 20
- OXA 1 à OXA 3
- PSE 1 = CARB 2
- SHV 1 à SHV 5
- PSE 2 = OXA 4
- PSE 3 = CARB 4
- PSE 4 = CARB 1

PSE 1 et PSE 4 sont aujourd'hui appelés CARB 2 et CARB 1 à cause de leur action préférentielle sur les Carboxypénicillines (7).

➤ Les pénicillinases

Elles ont pour substrat préférentiel les Pénicillines G, les Aminopénicillines, les Carboxypénicillines et les Uréïdopénicillines.

Les gènes codant pour les Pénicillines sont portés essentiellement par les plasmides.

Il faut cependant noter qu'il existe chez *Klebsiella pneumoniae*, une enzyme type pénicillinase : SHV-1 dont le support génétique est le chromosome.

Ces pénicillinases sont fabriquées en permanence par la bactérie en l'absence de tout inducteur (constitutives) sauf dans le cas de *Staphylococcus aureus* (inductibles). Il existe une très grande variété de pénicillinases pouvant être spécifiques à un genre (pénicillinases de *S.aureus*) ou largement distribuées.

L'enzyme de type TEM est surtout retrouvée chez les Entérobactéries, les *Haemophilus*, les *Neisseria*, les *Pasteurella*, les *Pseudomonas*.

Elle inactive les Aminopénicillines, les Carboxypénicillines, les Uréidopénicillines et les premières Céphalosporines (TABLEAU IV).

Pseudomonas aeruginosa produit principalement les enzymes de type PSE ou OXA qui n'hydrolysent pas la Ceftazidine, l'Imipenem et la Céfépime, contrairement aux Pénicillines, à la Céfopérazone et à la Cefsulodine (63, 101).

Depuis 1983 des β -lactamases ayant un spectre très large sont apparues : les BSE (β -lactamases à Spectre Elargi) inactivant entre autre les Céphalosporines de type oxyimino.

La plupart de ces enzymes sont des mutants de TEM ou SHV avec des substitutions d'acides aminés proches du site enzymatique, entraînant une affinité et une hydrolyse accrue propre aux β -lactamines actuellement utilisées à l'hôpital (103). Ces β -lactamases sont retrouvées chez de nombreuses Entérobactéries (*Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia*) (90, 11).

Récemment sont apparues :

- des β -lactamases à spectre élargi, non dérivées de TEM ou de SHV, telles MEN-1, BIL-1, FEC-1.
- de nouvelles et rares enzymes comme les carbapénémases ou β -lactamases TRI (TEM Resistant Inhibitor).

Elles sont généralement chromosomiques et spécifiques d'une espèce (72). Parfois présentées mais non exprimées, comme chez *Escherichia coli*, elles peuvent s'exprimer à bas niveau ou à haut niveau, conduisant à des phénotypes de résistance très hétérogènes.

Le phénotype « pénicillinases bas niveau » correspond généralement au phénotype sauvage de l'espèce (76).

Le phénotype « pénicillinases haut niveau » correspond aux souches sécrétant des enzymes qui hydrolysent les β -lactamines à l'exception de l'Imipenem et du Mécillinam (TABLEAU V).

On retrouve ce phénotype essentiellement chez certaines Entérobactéries (*Serratia*, *Enterobacter*, *Morganella*) et chez les *Pseudomonas* où ce mécanisme est fréquemment observé.

TABLEAU IV: Résistance naturelle des Entérobactéries aux β - lactamases (7)

Groupe de β -lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Aminopénicilline	S	R	R	R
Carboxypénicilline	S	R	S	R
Uréidopénicilline	S	I	S	I
C1G	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénems	S	S	S	S
Mécanisme de résistance	Absence de β -lactamase	Pénicillinase	Céphalosporinase	Pénicillinase + Céphalosporinase

S = Sensible ;

I = Intermédiaire

R = Résistant ;

C1G = Céphalosporine de première génération

C3G = Céphalosporine de troisième génération

TABLEAU V : Phénotypes de résistance des Entérobactéries aux β -lactamases (7)

Marqueurs	Pénicillinase bas niveau	Pénicillinase haut niveau	TRI	Céphalosporinase inductible	Céphalosporinase déréprimée	BLSE
Amoxicilline	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline +Ac. Clav.	S	I/R	R	R	R	R
Ticarcilline	R	R	R	S	R	R
Mécillinam	S	R	R	R	R	R
Céfalotine	S	R	S	R	R	R
Ceftazidime	S	S	S	S	R	R

➤ **Les céphalosporinases**

Les céphalosporinases sont des β -lactamases codées par un gène chromosomique.

Leur localisation est périplasmique et sont produites, à bas niveau par les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus Indole* +, *Morganella*, *Serratia*, *Providencia*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter* rendant ces espèces résistantes aux Aminopénicillines et aux Céphalosporines de première génération (C1G), mais n'altèrent pas la sensibilité à la plupart des Céphalosporines de deuxième génération (C2G), des Céphalosporines de troisième génération (C3G), ainsi qu'aux Acyl-uréïdopénicillines, Monobactames et Carbapénems (TABLEAU VI).

La céphalosporinase inductible

La production de céphalosporinase chromosomique est souvent inductible.

Le gène qui règle leur production est soumis au contrôle d'un répresseur dont l'action peut-être levée par des « inducteurs » : le gène est alors activement transcrit et la production de l'enzyme augmente.

Ces inducteurs sont des β -lactamines (Imipenem, Cefoxitine).

Il existe cependant des inducteurs non spécifiques qui ne sont pas des β -lactamines (acides aminés, certains alcools, vitamines).

Les céphalosporinases inductibles sont habituellement rencontrées chez certaines Entérobactéries, telles que :

Enterobacter cloacae, *Hafnia*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Acinetobacter*, ainsi que d'autres bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*.

TABLEAU VI : Action des β -lactamases sur les β -lactamines (7)

Antibiotiques	Pénicillinases			Céphalosporinases		BLSE*
	<i>S.aureus</i>	Bacilles à Gram -		Inductible	Déréprimée	
		Bas niveau	Haut niveau			
Péni G, V	+	+	+	+	+	+
Péni M	-				+	
Péni A	+	+	+	+	+	+
Péni A +Ac.Clav.	-	-	V	+	+	V
Carboxypénicilline	+	+	+	-	+	+
Carboxy+ Ac.Clav.	-	-	V	-	+	V
Urétidopénicilline	+	-	+	-	+	+
C1G	-	-	+	+	+	+
C2G		-	+	+	+	+
C3G		-	-	-	+	+
Céphamycines		-	-	V	+	-
Monobactames		-	-	-	+	+
Carbapenems	-	-	-	-	-	-

(+): active, la souche est résistante ;

(-): inactive, la souche reste sensible ;

(V): activité faible, l'effet est variable ;

* : β -lactamase à spectre étendu ;

La céphalosporinase dérégulée

Certaines espèces telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, peuvent perdre par mutation le contrôle de la production de céphalosporinase qui est alors dérégulée et produite beaucoup plus abondamment. Les souches ainsi modifiées deviennent résistantes à toutes les β -lactamines, sauf les Amidinopénicillines et les Carbapénems.

La mutation peut survenir inopinément au cours d'un traitement et entraîner des échecs thérapeutiques.

La céphalosporinase d'*Escherichia coli*

Chez 7% des souches d'*E.coli*, nous mettons en évidence une céphalosporinase non inductible. Sa présence est due à l'augmentation par mutation de la production de la céphalosporinase chromosomique naturelle.

Elle inactive les Pénicillines A, les C1G et la Céfoxitine.

Les autres C2G, les C3G, l'Aztréonam et les Penems restent actifs, tandis que les Carboxy et Uréidopénicillines ont une activité légèrement diminuée mais encore suffisante.

❖ Les estérases

Ces enzymes hydrolysent la chaîne latérale des Céphalosporines, les rendant inactives.

❖ Les amidases

Ces enzymes ne sont retrouvées que chez les bactéries à Gram négatif. Elles hydrolysent la chaîne latérale des β -lactamines et libèrent l'acide 6 amino-pénicillanique dans le cas des Pénicillines, soit de l'acide 6 amino-céphalosporinique, dans le cas des Céphalosporines, tous deux inactifs (31).

I.3.4.2 La résistance non enzymatique aux Bêta-lactamines

Les mécanismes de résistance non enzymatique liés à la production de β -lactamases sont différents chez les bactéries à Gram positif ou négatif.

✓ Les résistances non enzymatiques chez les bactéries à Gram positif

C'est la modification des PLP qui constitue le mécanisme principal de la résistance non enzymatique chez les bactéries à Gram positif (46).

Plusieurs PLP sont présentes dans chaque espèce, et parmi celles-ci, il existe le plus souvent une PLP dite « essentielle », dont l'affinité pour les β -lactamines est corrélée à la CMI (60).

Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrés (TABLEAU VII) :

TABLEAU VII: Résistances liées à des modifications de PLP chez des bactéries à Gram positif (109)

Mécanismes	Espèces bactériennes
Diminution d'affinité pour les β -lactamines	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>
Augmentation de la quantité d'une PLP essentielle	Entérocoques
Acquisition d'une nouvelle PLP	<i>Staphylococcus aureus</i>
Multiples modifications	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

- La diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les β -lactamines et dans le cas elle est diminuée pour toutes les β -lactamines, mais de façon inégale selon les molécules.

- L'augmentation de la quantité de PLP

Ce mécanisme a été bien étudié chez *Enterococcus faecium*. Il a été 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, pouvant s'accompagner d'une baisse de l'affinité pour les β -lactamines.

Cette PLP prend la fonction de PLP essentielle par rapport aux autres.

- L'acquisition d'une nouvelle PLP qui va prendre le rôle de PLP essentielle.

C'est le cas de *S. aureus* résistant à la Méthicilline (SARM) (46, 59).

La résistance aux β -lactamines par modification des PLP est croisée pour toutes les β -lactamines.

✓ Les résistances non enzymatiques chez les bactéries à Gram négatif

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

TABLEAU VIII: Mécanismes de résistances non enzymatiques aux β -lactamines chez les bactéries à Gram négatif (109)

Mécanismes	Espèces
Modifications de porines ou de protéines de la membrane externe	Entérobactéries (<i>E.coli</i> , <i>P.mirabilis</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.cloacae</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Serratia</i>) <i>Pseudomonas</i> , <i>Haemophilus</i> , Gonocoque
Modification des PLP	<i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Haemophilus</i> , Gonocoque
Modification du PLS	<i>Pseudomonas</i>

- Rôle de la perméabilité dans la résistance des bactéries à Gram négatif aux β -lactamines

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance.

Ce mécanisme n'affecte pas les Gram positif, car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries.

Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques, mais des porines, protéines formant canaux, permettent le passage de molécules hydrophiles, comme les Pénicillines à large spectre, les Céphalosporines, les Aminosides, les Phénicolés ou les Tétracyclines (7).

La sensibilité aux antibiotiques dépend du nombre de porines fonctionnelles.

C'est chez *E.Coli* que la relation entre les porines et les β -lactamines a été le mieux étudiée (64).

Ainsi, deux types de porines sont présentés chez *E.coli* :

- Omp C
- Omp F

Chez les mutants Omp C-, la pénétration des β -lactamines n'est pas diminuée car le diamètre de la porine Omp F est suffisamment large.

Cependant, l'absence de Omp F s'accompagne d'une résistance à la Céfoxitine (4 fois la CMI) sans modification de la CMI pour la Céfaloridine.

Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel des β -lactamines à travers la porine Omp F car la plus large.

Quant aux mutants OmpC- OmpF-, leur CMI est augmentée de manière très importante.

Concernant les Céphalosporines de troisième génération, des résultats variables ont été obtenus avec généralement une légère augmentation plus marquée pour la Moxalactame (10-100 fois la CMI) (32, 92).

Ce mécanisme de résistance a été rencontré chez d'autres espèces : Salmonelles, Klebsielles, *Serratia*, *Enterobacter* (56).

TRIAS et NIKAIDO ont démontré l'existence d'une porine (porine D2) chez le *Pseudomonas*, responsable du transport spécifique des Carbapénems et, dont l'absence ou la fermeture justifie la résistance isolée à l'Imipenem, non croisée aux autres β -lactamines ou aux antibiotiques hydrophiles (87, 108, 99).

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

Les Protéines de Liaison à la Pénicilline (PLP) sont des enzymes qui interviennent dans l'assemblage du peptidoglycane de la paroi.

La fixation des β -lactamines inactive leurs fonctions enzymatiques et la bactérie, ainsi privée de paroi, devient très sensible aux systèmes autolytiques.

La résistance est due à la diminution d'affinité de ces PLP, soit par augmentation de leur production, soit par synthèse de nouvelles PLP de très faible affinité.

L'altération des PLP n'a été que rarement démontrée chez les bactéries à Gram négatif (30,79, 108).

Le rôle des PLP dans la résistance bactérienne intrinsèque a surtout été mis en évidence chez des mutants de *E.Coli* qui avaient une résistance augmentée au Mécillnam et à l'Imipenem due à une diminution de l'affinité des PLP-2 pour ces antibiotiques alors que les mutations touchant la PLP-3 s'accompagnait d'une résistance vis-à-vis des Céphalosporines.

- Autres mécanismes de résistance aux β -lactamines

Altération du PLS

Une modification d'une porine spécifique entraîne une résistance isolée à l'Imipenem chez *Pseudomonas aeruginosa*. Mais c'est une modification de composition du PLS (soit dans le core, soit dans le polysaccharide) qui semble être la cause de la résistance non enzymatique des *Pseudomonas* aux β -lactamines (52).

Tolérance bactérienne

Une bactérie est dite « tolérante » lorsqu'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 a disparu.

L'absence d'activation du système lytique, normalement activé par l'antibiotique explique ce phénomène.

Persistance bactérienne

Contrairement aux autres résistances, le mécanisme de persistance bactérienne implique une perte ou une diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène.

La modification du métabolisme bactérien explique alors la persistance du germe *in vivo* en présence de l'antibiotique.

Le phénomène a été observé avec de nombreux antibiotiques tels que les β -lactamines, Aminosides, Quinolones, Tétracyclines, Rifampicine et Polymixines.

I.3.5 La résistance aux Aminosides (6, 66)

I.3.5.1 La résistance naturelle

Les bactéries anaérobies strictes et les bactéries aéro-tolérantes sont naturellement résistantes aux Aminosides.

Parmi les espèces aérobies à Gram négatif, certaines sont résistantes à divers Aminosides, c'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa*.

I.3.5.2 La résistance acquise

- 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.

Cependant, 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. 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.

- Interférence avec le transport de l'antibiotique

La pénétration des Aminosides dans les bactéries se fait par un phénomène :

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

Dans ce cas, 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.

- Détoxification enzymatique des antibiotiques

La modification enzymatique des Aminositides médiée par les plasmides constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le plus fréquemment rencontré en clinique.

Les enzymes sont séparées en trois classes :

- ✓ Les Aminositide-Phosphotransférases (APH)
- ✓ Les Aminositide-Nucléotidyltransférases (ANT)
- ✓ Les Aminositide-Acétyletransférases (AAC)

Ceci, en fonction de la réaction qu'elles catalysent (Figure 1), mais ces enzymes sont aussi divisées en sous-classes, selon le site de la molécule d'antibiotique qu'elles modifient.

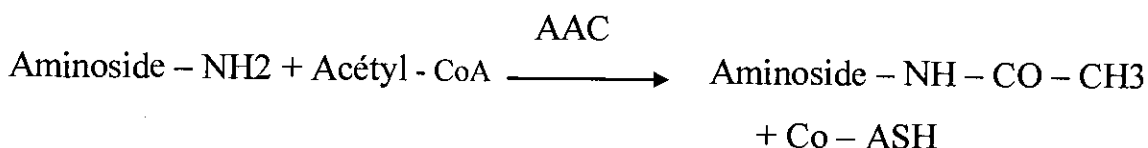
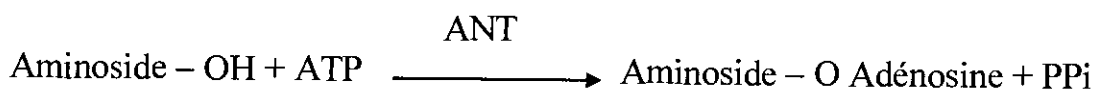
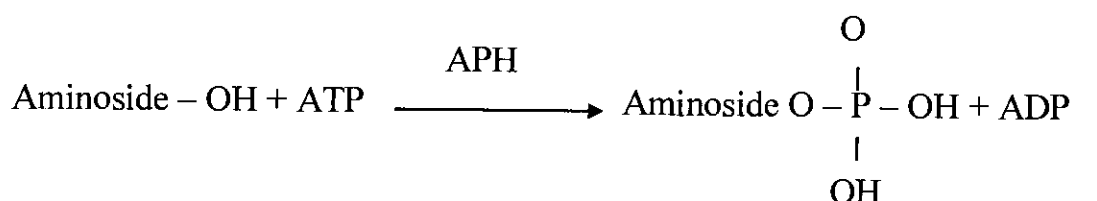


Figure 1: Modification enzymatique des Aminositides : phosphorylation ou adénylation d'un groupement hydroxyde, acétylation d'un groupement aminé

Les enzymes diffèrent dans leurs éventails de substrats et quelques unes existent sous diverses formes isozymiques. De plus, le problème de la sélection *in vivo* et de la dissémination ultérieure des mécanismes de résistance demeure encore compliqué.

En effet, la majorité des souches résistantes aux Aminosides hébergent un ou plusieurs plasmides codant chacun fréquemment pour plusieurs enzymes modificatrices ou, associent divers mécanismes de résistance.

Parmi ces enzymes, seules les phosphotransférases confèrent de très hauts niveaux de résistance.

L'enzyme confère à l'hôte, la capacité de croître en présence de plus fortes concentrations d'antibiotique non modifié. La résistance est due à l'équilibre entre un transport peu efficace des Aminosides à l'intérieur de la bactérie et de l'inactivation enzymatique de ces molécules. Le phénotype résistant conféré par une enzyme donnée, dépend à la fois qualitativement et quantitativement de l'hôte.

Ainsi, un mécanisme de résistance n'a pas de « niveau » en soi ; il agit en « amplifiant » le niveau de sensibilité de la bactérie - hôte.

I.3.5.3 La notion de Haut Niveau de Résistance aux Aminosides (HNR)

Les Streptocoques sont résistants aux Aminosides car ceux-ci y pénètrent difficilement.

Leur pénétration nécessite l'énergie d'un gradient de protons que ces bactéries ne produisent pas. Afin de détecter si la résistance est due à la non pénétration (bas niveau de résistance), à une modification de la cible ou à une enzyme inactivatrice (haut niveau de résistance), les Aminosides doivent être, dans ce cas, testés à la fois avec les disques habituels, et avec des disques très chargés.

Des souches d'Entérocoques présentent un Haut Niveau de Résistance aux Aminosides (CMI supérieure à 1000 mg/l). Ce HNR a été défini chez les souches cliniques d'*Enterococcus faecalis* et d'*Enterococcus faecium* et s'explique essentiellement par l'acquisition par la bactérie, de gènes transposables ou plasmidiques codant pour la synthèse d'enzymes modificateurs.

I.3.6 La résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (31)

I.3.6.1 La résistance acquise

- **Modification de la cible**

- **Mécanisme biochimique et déterminisme génétique du phénotype MLS_B**

Le mécanisme de cette résistance consiste en une altération spécifique et unique du ribosome bactérien.

Les souches résistantes produisent une méthylase, responsable de la diméthylation d'une adénine dans l'ARN 23S de la sous-unité ribosomale 50S.

Cette altération ribosomale entraîne généralement des changements de conformation de l'ARN_R 23S, ayant pour conséquence la réduction de l'affinité entre les MLS et leur cible.

Cette résistance ainsi conférée est croisée entre les Macrolides, les Lincosamides et les Streptogramines B dont les sites de fixations sont communs ou se chevauchent, d'où le nom de phénotype MLS_B .

- Expression de la résistance MLS_B et sa régulation

Si la résistance est inductible, il y a dissociation entre l'activité des Macrolides en C_{14} et celle des autres Macrolides, des Lincosamides et des Streptogramines.

Si la résistance est constitutive, la souche est résistante à l'ensemble des Macrolides, des Lincosamides et au seul facteur B des Streptogramines.

La régulation de la résistance est post-transcriptionnelle.

- Inactivation des antibiotiques

Les antibiotiques du groupe MLS sont susceptibles d'être inactivés par différentes enzymes.

Cependant, la résistance par inactivation n'est pas croisée entre les antibiotiques non apparentés chimiquement et, est de faible fréquence.

Les enzymes concernées sont les estérases, acétylases, hydrolases et nucléotidases.

- Imperméabilité

Les souches résistantes n'inactivent pas les antibiotiques ; il y a juste une diminution de l'accumulation intracellulaire des Macrolides.

Cette résistance serait due à une modification du transport des Macrolides en C_{14} .

I.3.7 La résistance aux Quinolones

Les bactéries acquièrent une résistance aux Quinolones exclusivement par mutation chromosomique.

Ces mutations entraînent soit une modification de la cible, soit une interférence avec le transport de l'antibiotique.

Pour être en situation plasmidique, un caractère doit être dominant sur sa contrepartie chromosomique sauvage.

Récemment, la résistance plasmidique chez des souches de *Shigella* a été rapportée, cependant, le mécanisme biochimique n'a pas encore été élucidé.

Trois types de mutations au niveau de l'ADN ont été décrites, dont la mutation NAL A qui est la plus fréquente et confère une résistance de haut niveau à l'Acide Nalidixique.

La résistance est croisée entre les différentes Quinolones.

I.3.8 La résistance aux Tétracyclines

Le mécanisme principal de résistance aux Tétracyclines repose sur l'insuffisance de concentration intracellulaire en antibiotique.

Le système actif de transport est en balance avec un système excréteur responsable de la résistance.

Celle-ci est surtout liée à une excrétion excessive d'antibiotique à travers la membrane cytoplasmique, faisant intervenir la synthèse inductible ou constitutive du système excréteur.

Ce système de pompe, régulé négativement, comporte deux gènes :

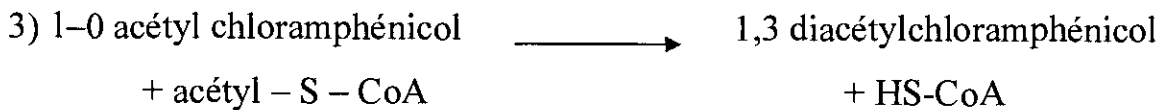
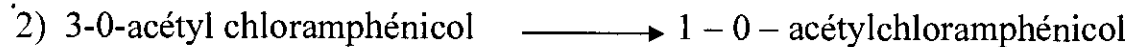
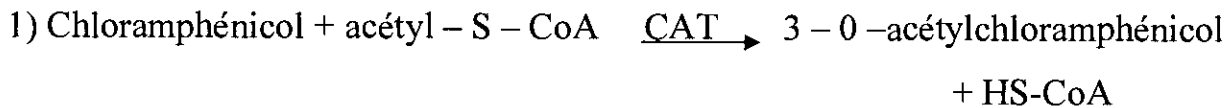
- le gène de contrôle ou répresseur
- le gène de structure ou protéine TET

Parmi les autres mécanismes de résistance évoqués, l'un est en relation avec la protection des ribosomes (TET M).

L'incidence de la résistance par imperméabilité observée chez les souches porine déficiente, exclusivement des espèces à Gram négatif, est encore faible, mais la résistance est croisée avec d'autres antibiotiques comme les β -lactamines, le Chloramphénicol et l'Acide Nalidixique.

I.3.9 La résistance aux Phénicolés

Le mécanisme de la résistance plasmidique est surtout dû à la production d'une « Chloramphénicol-Acétyltransférase (CAT) », qui inactive ces antibiotiques en C3 et C1, avec comme cofacteur, l'acétyl-coenzyme A, selon les 3 étapes suivantes :



Ce mécanisme de résistance plasmidique par production d'enzyme est décelable chez certaines Entérobactéries et parmi différentes espèces appartenant aux genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*.

Outre la résistance plasmidique par inactivation, un autre mécanisme est en relation avec la diminution de perméabilité de la paroi, entraînant une résistance croisée avec d'autres antibiotiques (β -lactamines, Aminosides, Quinolones et Triméthoprime).

I.3.10 La résistance aux Sulfamides et au Triméthoprim (39)

I.3.10.1 La résistance naturelle

La résistance naturelle aux Sulfamides est définie par une CMI supérieure à 100 mg/l.

Parmi les souches résistantes, 90% ont une CMI supérieure à 2000 mg/l et cette résistance concerne toutes les espèces, en particulier les Entérobactéries.

Un mécanisme possible de la résistance au Triméthoprim pourrait être l'utilisation des folates exogènes comme chez les Entérocoques.

Les souches ayant une CMI supérieure ou égale à 2 mg/l sont résistantes et celles dont les CMI sont supérieures à 1000 mg/l sont dites souches résistantes de haut niveau.

I.3.10.2 La résistance acquise

Il s'agit :

- soit de mutations chromosomiques ;
- soit d'une résistance codée par des plasmides ;

TABLEAU IX: Mécanismes de résistance en fonction du déterminisme génétique (30)

	Résistance Chromosomique	Résistance Plasmidique
SULFAMIDES	Diminution de perméabilité	DHPS additionnelle
	Hyperproduction de PAB	Diminution de perméabilité
	Hyperproduction de DHPS	
	DHPS mutée résistante	
TRIMETHOPRIME	Diminution de perméabilité	DHFR additionnelle
	Auxotrophie en thymine	(au moins 3 types différents)
	Hyperproduction de DHFR	
	DHFR mutée résistante	

I.3.11 La résistance à la Vancomycine

Le mécanisme de résistance des germes à Gram positif reste inconnu.

La tolérance a été décrite en 1977 chez *S. aureus* ; elle serait croisée avec certains antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane, c'est le cas des β -lactamines, de la Fosfomycine; et en relation avec un déficit du système muréïne-hydrolase.

Enfin, le mécanisme de la résistance naturelle des bactéries à Gram négatif est une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique hydrophobe.

I.3.12 La méthicillinorésistance (ou Oxacilline et dérivés)

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

La particularité de ce type de résistance est liée à son expression « hétérogène » ; c'est-à-dire qu'une seule fraction de la population est capable d'exprimer la résistance; en moyenne une bactérie sur 10^4 à 10^6 exprime la résistance (57).

Certaines souches sont extrêmement hétérogènes alors que pour d'autres, l'expression de la résistance s'exprime pour la quasi-totalité de la population; ces souches sont dites « homogènes ».

Différents facteurs sont susceptibles de modifier l'expression de cette résistance (TABLEAU X).

Lorsque les conditions idéales de culture sont réunies, le nombre de cellules exprimant la résistance peut-être multipliée par 10^3 ou 10^4 .

TABLEAU X: Facteurs intervenant dans l'expression des modifications de la méthicillinorésistance (109)

FACTEURS	CONDITIONS OPTIMALES DE LA RESISTANCE
Température	30°C
Osmolarité du milieu	2% à 5% de la NaCl
Lumière	Obscurité
pH	7,4
Durée d'incubation	48H
Inoculum	Lourd ($\geq 10^7$ UFC/ml)

Chez les SARM, la résistance à la Méthicilline est due à la synthèse d'une nouvelle PLP appelée PLP 2a pour laquelle les β -lactamines n'auraient qu'une faible affinité.

La synthèse de la PLP 2a serait inductible, expliquant ainsi le caractère plus ou moins hétérogène de la résistance en fonction de la souche, de l'antibiotique étudié et des différents facteurs préalablement cités.

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

Les SARM sont aussi producteurs d'une pénicillinase, sauf quelques rares souches.

Ils sont toujours résistants à la Streptomycine, aux Tétracyclines, aux Sulfamides et généralement à l'Erythromycine.

II. ASSOCIATION D'ANTIBIOTIQUES EN THERAPEUTIQUE ANTI-INFECTIEUSE (55)

L'étude *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques d'une souche bactérienne responsable d'une infection est indispensable à la bonne conduite du traitement de celle-ci. Lors d'une infection mineure, l'antibiothérapie peut-être simplement guidée par l'antibiogramme de la souche isolée. Cependant, l'association d'antibiotique peut-être légitimée pour plusieurs raisons :

- **Elargir le spectre antibactérien**

- Pour traiter en première intention une infection sévère: dans ce cas l'association de deux antibiotiques à spectre d'activité complémentaire sera instaurée après avoir effectué les prélèvements nécessaires au diagnostic. Elle pourrait être modifiée éventuellement en fonction des résultats bactériologiques.
- Pour traiter une infection plurimicrobienne, où un seul antibiotique ne peut-être actif sur l'ensemble de la population bactérienne, c'est le cas notamment des infections à localisation ouverte (broncho-pulmonaire, digestive, gynécologique).

- **Obtenir un effet synergique pour renforcer la bactéricidie**

La gravité de l'infection, qu'elle soit liée à un terrain particulièrement compromis, à un germe particulièrement résistant, ou à un site particulièrement difficile d'accès, peut nécessiter un renforcement et/ou une accélération de la vitesse de la bactéricidie.

Dans de telles situations, les Aminosides démontrent une importante activité lorsqu'elles sont associées à une β -lactamine ou à une Fluoroquinolone.

Les résultats thérapeutiques sont le plus souvent corrélés à l'action de l'association étudiée *in vitro*, sur la souche bactérienne à l'origine du syndrome infectieux.

Les effets synergiques sont plus souvent attendus lorsque la souche est sensible à chacun des deux antibiotiques de l'association ou, lorsqu'elle est de sensibilité intermédiaire à l'un d'entre eux.

Mais ces effets peuvent aussi être obtenus lorsque la souche est sensible à l'un des deux antibiotiques et résistante à l'autre.

Ils sont plus rares lorsque la souche est résistante aux deux antibiotiques.

En revanche, les effets antagonistes mis en évidence *in vitro* sont rarement démontrés en thérapeutique.

- **Prévenir l'émergence des mutants résistants**

Les facteurs favorisant l'émergence des bactéries résistantes sont :

- ✓ L'espèce bactérienne
- ✓ L'antibiotique utilisé

Certains antibiotiques (Fosfomycine, Acide Fusidique, Rifamycine, Quinolones) dont les mécanismes de résistance sont le plus souvent de déterminisme chromosomique, sont l'objet d'une fréquence de mutation élevée vers la résistance.

Cette résistance s'exprimera d'autant plus rapidement par l'émergence de mutants résistants au cours même de la thérapeutique, que la concentration bactérienne au site de l'infection sera importante.

L'utilisation de ces antibiotiques ne peut se concevoir qu'en association.

- ✓ La posologie insuffisante
- ✓ Le niveau de sensibilité initiale
- ✓ L'existence d'un corps étranger
- ✓ Le problème de l'émergence de souches résistantes au cours du traitement par des β -lactamines reste cependant le plus préoccupant.

Deux phénomènes apparaissent :

- Certains bacilles à Gram négatif, surtout rencontrés dans les infections nosocomiales, sont naturellement producteurs d'une céphalosporinase de déterminisme chromosomique, inductible. Celle-ci est habituellement produite en faible quantité dans l'espace périplasmique et son taux augmente considérablement sous l'effet des β -lactamines inductrices, comme dit

précédemment. Ce phénomène est à l'origine de la résistance dite naturelle des souches appartenant à ces espèces bactériennes, aux Aminopénicillines, aux Céphalosporines de première génération, et parfois de deuxième génération.

- Certaines de ces souches, sous l'effet de la pression sélective exercée par les β -lactamines, font l'objet d'une mutation au niveau du système de régulation de la synthèse de la céphalosporinase ; elle est alors synthétisée à haut niveau, de façon constitutive (dérépression), c'est-à-dire même en l'absence d'antibiotique. Les souches sont alors résistantes à l'ensemble des β -lactamines, y compris les Céphalosporines de troisième génération.

Les conséquences de ces phénomènes de résistance permettent d'expliquer de nombreux échecs thérapeutiques sur des bactéries initialement sensibles.

L'administration concomitante d'un Aminoside, d'une Quinolone, pourrait permettre de limiter l'émergence de souches produisant des céphalosporinases inductibles, susceptibles de se déréprimer.

Il faut dans tous les cas éviter d'associer deux β -lactamines sensibles aux β -lactamases.

De même, il faudra éviter d'associer deux β -lactamines dont l'une est connue comme inductrice et l'autre sensible aux céphalosporinases.

Cependant il faut savoir que la bithérapie n'est pas une garantie absolue dans la prévention de l'émergence de mutants résistants, même s'il existe *in vitro* une synergie entre les deux antibiotiques associés.

II.1. Le choix des associations d'antibiotiques

II.1.1 Choix en fonction du germe

Du fait que l'efficacité de l'antibiotique est fonction de la souche, il existe des associations « standards » utilisées pour chaque souche.

II.1.2 Autres critères de choix

Selon chaque cas, le choix des antibiotiques à étudier dépendra également de leur capacité de diffusion dans le foyer infectieux, de la voie d'administration souhaitée (orale ou parentérale), des risques toxiques et des effets secondaires liés à l'état du malade.

II.2. Définition des interactions

Les effets antibactériens des associations d'antibiotiques sont généralement définis par les quatre possibilités d'interactions suivantes :

✓ L'indifférence :

L'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre.

✓ L'addition :

L'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration que dans l'association.

✓ La synergie :

L'effet est significativement supérieur à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration.

Divers mécanismes peuvent expliquer les interactions synergiques. Par exemple :

- Synergie des associations β -lactamines et Aminosides, liée à une augmentation de la perméabilité de la paroi bactérienne aux Aminosides ;
- Synergie des β -lactamines possédant des sites différents de fixation au PLP : Ampicilline, Pivmécillinam ;
- Synergie par compétition d'affinité pour une enzyme de type β -lactamase : Pénicilline ou Ampicilline et Cloxacilline, Amoxicilline et Acide Clavulanique ;
- Synergie par inhibition séquentielle d'une même voie métabolique : Sulfaméthoxazole et Triméthoprine.

✓ **L'antagonisme :**

L'association diminue l'activité de l'un ou l'autre des antibiotiques. Son activité est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique pris indépendamment.

Les effets antagonistes peuvent résulter des interactions suivantes :

- L'association Chloramphénicol et Macrolide, entraînant une compétition de ces molécules pour le même site de fixation sur la sous-unité 50S du ribosome ;
- L'association Aminoside et Tétracycline ou Chloramphénicol, dont l'antagonisme serait lié à l'inhibition du transfert actif de l'Aminoside dans la bactérie ;

- Certaines associations de β -lactamines sont antagonistes lorsque l'une des β -lactamines est inductrice d'une β -lactamase, c'est le cas pour la Céfoxitine et la Ceftazidime ou Céfamandole. *In vitro*, la caractérisation de ces interactions dépend de la précision de méthodes utilisées, c'est pourquoi les effets indifférents et additifs traduisant une faible interaction, ne sont pas toujours différenciés.

II.3. Méthodes d'étude des associations d'antibiotiques

Il existe plusieurs méthodes d'étude des associations d'antibiotiques pouvant être regroupées en deux catégories :

- Les techniques d'étude par diffusion
- Les techniques d'étude par dilution en milieu liquide

II.3.1 Les techniques d'étude par diffusion

Deux bandes de papier buvard chargées d'antibiotiques A et B sont disposées en angle droit sur un milieu gélosé préalablementensemencé par flottage avec la bactérie à tester.

Après incubation à 37°C, nous obtenons en bactériostase une zone d'inhibition linéaire parallèle à chaque bande. L'angle formé par l'intersection de ces zones d'inhibition revêt divers aspects permettant de définir l'interaction des molécules A et B associées.

Une variante de la technique précédente est appelée « transfert sur cellophane ».

Après disposition des bandes, comme précédemment, mais sur une gélose non ensemencée, celles-ci sont ensuite retirées de la surface du milieu dès que la

diffusion des antibiotiques est assurée. Une membrane de cellophane est appliquée à la surface de ce milieu qui est ensemencé par flottage avec la bactérie à étudier. La culture bactérienne se développe directement sur celle-ci, sauf dans les zones situées au contact du milieu imprégné d'antibiotique. On note l'effet observé en bactériostase.

II.3.2 Les techniques d'étude par dilution en milieu liquide

II.3.2.1 Technique simplifiée pour la pratique clinique

Une même quantité de bouillon ensemencé avec la bactérie à étudier à une concentration de l'ordre de 10^6 germes/ml est répartie dans une série de tubes à hémolyse disposés selon un « schéma triangulaire ».

Dans chaque tube, l'adjonction de disques imprégnés d'antibiotiques (disque pour antibiogramme), en quantité convenable, permet d'obtenir les concentrations désirées des antibiotiques à étudier, isolément et en association.

Ces concentrations sont comprises dans les limites des concentrations humorales efficaces établies pour chacun des antibiotiques.

Après 24 heures d'incubation à 37°C , la numération des germes survivants, dans chaque tube ne présentant pas de culture visible, permet de déterminer l'effet bactériostatique et l'action bactéricide des antibiotiques isolés et de leur association.

Le pourcentage de germes survivants est déterminé par simple comparaison de la densité des colonies de germes survivants aux antibiotiques à la densité des colonies obtenues avec l'inoculum initial (témoin inoculum).

II.3.2.2 Technique de « l'Echiquier »

C'est la technique qui a été choisie dans le cadre de l'étude que nous avons menée.

Cette méthode permet de quantifier l'interaction de deux antibiotiques A et B en réalisant l'association d'une gamme de concentrations A et B. Les concentrations utilisées représentent habituellement une progression géométrique de raison 2 ; des dilutions de raison 1,5 peuvent être nécessaires à une quantification plus précise des interactions.

III. LE CONTROLE DE QUALITE ET LA VALIDATION

La fiabilité des résultats obtenus est influencée par de nombreux paramètres qui doivent être rigoureusement contrôlés. Selon les pays, il peut exister des variations techniques et il est important de respecter une technique identique à celle utilisée pour l'établissement des courbes de concordance.

III.1. Le contrôle de qualité (8)

Le domaine de la qualité utilise un vocabulaire spécifique qu'il est important de maîtriser pour tout biologiste.

Pour cela il convient de se reporter aux définitions de la norme ISO 8402 Version 1994 et du Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale pour les termes suivants :

Qualité : La qualité est l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu, à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur.

Contrôle de qualité : Ensemble des procédures mises en oeuvre dans un laboratoire, en vue de permettre un contrôle de qualité des résultats des analyses au fur et à mesure de leur exécution.

Validation : Opération permettant d'assurer qu'un résultat a été obtenu dans des conditions techniques satisfaisantes et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.

Echantillon de contrôle : Echantillon adapté à la méthode utilisée et destinée à apprécier l'exactitude et la précision des résultats.

Autres critères de qualité

Les autres critères de qualité d'un test diagnostique sont les suivants :

- la fiabilité: le résultat est il correct ?
- la reproductibilité: obtient on le même résultat lorsqu'on répète le test ?
- la rapidité: le test est il suffisamment rapide pour être utile ?
- le rapport coût-avantage: le coût du test est il raisonnable au regard des avantages qu'il présente pour la communauté ?

III.2. La validation

III.2.1 Procédures de validation

La validation est la confirmation par examen et apport de preuves effectives du fait que les prescriptions particulières d'une méthode analytique en vue d'une utilisation prévue, déterminée, sont remplies.

La validation a pour principal objectif de s'assurer qu'un test microbiologique déterminé donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse.

Il faudra donc définir correctement à la fois, les conditions dans lesquelles le test sera utilisé et le but dans lequel il sera employé.

En effet, la validation inclut la spécification des exigences, la détermination des caractéristiques des tests, ainsi qu'une déclaration relative à la validité.

III.2.2 Définitions de quelques paramètres de validation **(38, 45, 44, 54, 73, 75)**

La validation d'une méthode permet de connaître ses caractéristiques pour définir et juger la qualité du processus analytique (reproductibilité, répétabilité, précision, exactitude, spécificité, linéarité et domaine d'utilisation, sensibilité, limite de détection) afin d'en préciser les limites de validité.

Ainsi, la validation consistera en l'évaluation de chacune des caractéristiques précitées :

- linéarité et domaine d'utilisation ;
- répétabilité et reproductibilité ;

- limite de détection ;
- précision ;
- exactitude ;
- sensibilité ;
- spécificité.

✓ Linéarité ou domaine d'analyse

C'est l'évaluation de la limite haute et basse de la relation linéaire existant entre la concentration de l'analyte et la dilution effectuée.

La linéarité d'une méthode analytique est sa capacité à donner des résultats directement proportionnels à la concentration de l'analyte dans les échantillons.

Ces caractéristiques sont déterminées en appliquant la méthode à une série d'échantillons dont les concentrations en analyte couvrent tout le domaine d'utilisation proposé.

Il faut analyser chaque dilution en triple, répéter l'essai, le cas échéant dans d'autres conditions de temps.

✓ Limite de détection

C'est la plus petite quantité ou concentration qui peut-être distinguée, avec une probabilité connue, d'un blanc de la réaction réalisé dans les mêmes conditions.

Elle est égale à k fois l'écart-type de précision, mesuré sur le blanc.

Si le nombre de valeur est égal à 30, la valeur de 3 est retenue pour k ...

$LD = S \times K$ $LD = \text{Limite de détection}$

$S = \text{Ecart-type}$

$K = \text{Facteur dépendant du nombre de mesures effectuées}$

✓ Précision

C'est le degré d'accord entre les résultats obtenus lors d'essais différents.

Elle est mesurée par la dispersion des résultats individuels de part et d'autre de la moyenne et, elle est généralement représentée par l'écart-type ou par le coefficient de variation, calculé après avoir appliqué la méthode complète de façon répétée à un certain nombre d'échantillons identiques sur le même lot homogène du produit à analyser.

✓ Répétabilité et reproductibilité

C'est l'évaluation de la dispersion des résultats obtenus à partir des aliquotes d'un même spécimen distribués dans une même série d'analyse (répétabilité), ou dans des séries différentes (reproductibilité).

+ Répétabilité

La mesure de la variation des résultats obtenus au sein d'un même laboratoire caractérise la précision obtenue lorsque la méthode est répétée par le même analyste dans les mêmes conditions (réactifs, matériel, réglage, laboratoire) dans un court intervalle de temps.

Il faut calculer les variances de chaque série de mesure, puis la variance intra série ainsi que l'écart-type (S) en utilisant les formules :

$$V = \frac{V_1 (n_1 - 1) + V_2 (n_2 - 1) + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}$$

$$S = \sqrt{V}$$

+ Reproductibilité

C'est la précision de la méthode lorsqu'elle est appliquée dans des conditions différentes, généralement dans des laboratoires différents, à des échantillons distincts, théoriquement identiques, prélevés sur le même lot homogène de produit à analyser.

La comparaison des résultats par différents analystes, avec un matériel différent, à des dates différentes, peut aussi fournir des informations précises à cet égard.

Il faudra alors calculer la moyenne et l'écart-type des valeurs obtenues pour un même spécimen au cours des séries indépendamment effectuées en exploitant les formules :

$$m = \frac{\sum X_i}{n}$$

X_i = Chaque valeur ; n = Nombre total de valeurs

S = Ecart-type ; m = Moyenne

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - m)^2}{n-1}}$$

✓ Spécificité

C'est l'aptitude d'une méthode à mesurer la concentration de l'analyte sans interférences de la part des autres constituants de l'échantillon.

La sélectivité (ou l'absence de la sélectivité) peut s'exprimer par l'erreur systématique constatée dans les résultats obtenus avec l'analyte en présence des

concentrations escomptées des autres constituants, par comparaison des résultats obtenus en l'absence de ces substances.

✓ Sensibilité

C'est l'aptitude de la méthode à détecter de petites variations de concentration.

Elle est représentée par la pente de la courbe d'étalonnage.

On doit éviter de donner à ce terme un sens plus général englobant la limite de détection et/ou de dosage.

✓ Exactitude et justesse

Evaluation de l'exactitude d'une méthode B par rapport à une méthode A reconnue pour sa fiabilité (technique de référence), avec des spécimens de contrôle.

L'exactitude d'une méthode est le degré de concordance entre les résultats obtenus et la vraie valeur de la grandeur mesurée.

Remarque :

Toutes ces caractéristiques ne sont pas toujours applicables à toutes les méthodes d'essai ni à tous les produits à analyser.

Dans tous les cas, chacune des caractéristiques de performance applicable à la méthode analytique doit faire l'objet d'une évaluation fondée sur des données expérimentales.

TRAVAIL
PERSONNEL

I. MATERIEL ET MILIEUX

I.1. Matériel

I.1.1 Cadre d'étude

Ce travail a été effectué à l'unité de Recherche et de Biotechnologie Microbienne de l'Hôpital Aristide Le Dantec, un des nombreux Centres Nationaux Hospitaliers Universitaires (CNHU) existant à Dakar.

I.1.2 Souches bactériennes

Les souches ont été choisies parmi celles du laboratoire provenant de prélèvements variés (selles, pus, sang,...).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux souches multirésistantes, c'est-à-dire, à celles qui sont résistantes à plusieurs antibiotiques dont elles sont habituellement sensibles.

Nous avons utilisé huit souches bactériennes qui ont été préalablement identifiées puis conservées au laboratoire à la température de - 20°C. Aussi bien cocci que bacilles ont été testés.

Les différents cocci et bacilles ayant servi pour l'étude sont énumérés ci-dessous :

BACILLES

Escherichia coli ATCC 25922

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Salmonella typhi

Pseudomonas aeruginosa

Enterobacter cloacae

COCCI

Staphylococcus aureus ATCC 29213

Staphylococcus aureus

Enterococcus faecalis

I.1.3 Matériel de laboratoire

✓ Le matériel pour l'étude de la sensibilité

- Des boîtes de pétri
- Des écouvillons stériles
- Des tubes à hémolyse
- De l'eau physiologique stérile
- Une pince
- Des disques d'antibiotiques : Ceftriaxone, Gentamicine, Amikacine, Ampicilline, Ciprofloxacine

✓ **Le matériel pour la réalisation des associations**

- Les plaques de microtitration

Ce sont des plaques de microtitration CORNING stériles, à conditionnement unitaire et à usage unique.

Ces plaques nous ont permis d'incuber l'ensemble des antibiotiques incorporés dans l'AM3 et l'inoculum calibré.

- Les embouts stériles

Ceux-ci ont été stérilisés à l'autoclave ou au four à micro-ondes.

- Les tubes coniques et les tubes stériles de 10 ml

Ont permis de faire des dilutions d'antibiotique.

- Les micropipettes et le multipipetteur

Ont permis de prélever des microquantités de produit.

- Les pipettes et l'aide-pipetteur

L'aide-pipetteur a permis de pipeter par aspiration et de délivrer la quantité de produit voulue par rejet.

- Les bacs à canaux

Ont servi au dépôt des produits. Ceci a facilité le prélèvement.

- Le four à micro-ondes

Il a permis de stériliser le matériel à savoir :

- Les embouts
- Les canaux
- Les plaques

C'est un appareil performant qui stérilise en cinq à dix minutes tout le matériel.

- Les divers

- Un plateau en fer inoxydable afin d'y disposer les plaques ensemencées disposées à être incubée dans l'étuve à 37° C ;
- Un miroir-plan qui nous a permis de visualiser le changement de coloration lors d'une culture positive ;
- Des tubes NUNC utilisés pour la conservation des souches et des solutions mères d'antibiotiques à - 80°C ;
- Des portoirs ;
- Des seringues de 10 cc ;
- Des filtres de 22 pm ;
- Un bec bunsen ;
- Une anse de platine ;
- Un b cher rempli d'eau de Javel ;
- Du papier buvard ;
- Un pH-mètre ;
- Une étuve à 37  C (...).

I.2. Milieux de culture et réactifs

I.2.1 Milieux de culture

➤ L'Antibiotic Medium 3 (AM3)

- Composition

Le milieu utilisé est l'Antibiotic Medium 3 (AM3), ou milieu pour antibiotique, dont la composition, pour 500 g et un pH final égal à $7,0 \pm 0,1$ est la suivante :

- Extrait de viande	1, 5 g
- Extrait de levure	1, 5 g
- D (+) – Glucose	1 g
- Peptone de gélatine	5 g
- Chlorure de sodium	3,5 g
- Potassium di-hydrogénophosphate	1,32 g
- Di-potassium hydrogénophosphate	3,68 g

Dans ce milieu, nous avons incorporé 1g / L de glucose et 20 ml de rouge de phénol à 1%.

Il nous a permis de réaliser les dilutions des antibiotiques qui étaient les suivants :

Ceftriaxone	:	CRO
Amikacine	:	AMK
Ampicilline	:	AMP
Gentamicine	:	GEN
Ciprofloxacin	:	CIP

- Préparation

- Pesées des différents composés

La pesée consistait à prélever au moyen d'une spatule préalablement nettoyée, le composé pour ensuite le déposer sur une balance tarée :

- 17,5 g de poudre déshydratée d'AM3
 - 1 g de glucose anhydre déshydraté

- Dissolution

- La poudre d'AM3 ainsi prélevée a été dissoute dans 1000 ml (soit 1 L) d'eau distillée mesurée à l'aide d'une éprouvette graduée.
- Le tout a été mélangé puis porté à ébullition en agitant soigneusement jusqu'à dissolution complète de la poudre.
- Toujours à ébullition, 1 g de poudre de glucose anhydre a été ajouté au mélange.
- Enfin, après dissolution totale des différents constituants, le milieu a été transvasé dans un récipient adéquat puis 20 ml de Rouge de Phénol à 1% y ont été rajoutés.

Rappelons que le Rouge de Phénol est un indicateur coloré dont la zone de virage se situe aux environs de la neutralité. Il vire au jaune pour un pH inférieur à 6,2 (acidité) et au rouge pourpre pour un pH supérieur à 8 (alcalinité). Celui-ci a été préparé par dissolution de 0,1 g de poudre de Rouge de Phénol dans 100 ml d'eau distillée.

- Ajustement du pH

Un milieu de culture est le plus souvent neutre ou très légèrement basique, exceptionnellement, il peut-être franchement alcalin ou acide.

De toute façon, il est essentiel que la mesure de cette acidité, neutralité ou alcalinité soit effectuée correctement.

Cette mesure correspond à la concentration en ions hydrogène (H) du milieu, autrement dit, au pH dont l'échelle des valeurs s'étend de 1 (extrême acidité) à 14 (extrême alcalinité).

Ainsi le pH du milieu AM3 préparé a été contrôlé puis ajusté à la neutralité (7,2 - 7,3) selon deux possibilités, en fonction du pH initial du milieu :

- ✓ pH initial inférieur au pH désiré (donc trop acide) : Ajouter quelques gouttes de soude diluée (environ au 1/100), mélanger, vérifier le nouveau pH, recommencer l'opération si nécessaire ;
- ✓ pH initial supérieur au pH désiré (donc trop alcalin) : Ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) dilué (environ au 1/20), mélanger, vérifier.

- Autoclavage

Une fois le pH du milieu ajusté, la stérilisation a été effectuée à l'autoclave à 115-120°C pendant 20 minutes.

➤ Autres milieux de culture

D'autres milieux ayant servi à l'isolement et au contrôle des souches ont également été utilisés :

- Gélose Mueller-Hinton
- Gélose Eosine Méthylène Blue (EMB)
- Gélose au Sang Ordinaire (GSO)
- Gélose Hektoen

I.2.2 Réactifs

➤ Solutions tampons

Les solutions tampons utilisées sont constituées de :

Tampon Phosphate pH 8

- Phosphate monosodique 0,0524 g
- Phosphate dipotassique 1,673 g

Tampon Phosphate pH 6

- Phosphate monosodique 8 g
- Phosphate dipotassique 2 g

Pour chaque tampon, les différentes quantités pesées ont été dissoutes dans 100 ml d'eau distillée.

Le pH a été ajusté selon les besoins avec de l'acide chlorhydrique (HCl) 0,1 N ou de la soude NaOH.

Par la suite, ces solutions tampons ont été autoclavées à 120°C pendant 20 minutes.

➤ Solutions mères d'antibiotiques

Concernant la préparation des solutions mères d'antibiotiques, il faut noter que certaines poudres d'antibiotiques ne sont pas pures.

Tenant compte du degré d'impureté, le fabricant a indiqué l'activité spécifique de la poudre.

Deux variantes d'une même formule ont permis de déterminer soit la masse de poudre, soit le volume de solvant à utiliser :

$$\text{Masse (g)} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{Concentration désirée (}\mu\text{g/ml)}}{\text{Activité spécifique (}\mu\text{g/g)}}$$

$$\text{Volume (ml)} = \frac{\text{Masse (g)} \times \text{Activité spécifique (}\mu\text{g/g)}}{\text{Concentration désirée (}\mu\text{g/ml)}}$$

La masse de poudre ainsi déterminée a été diluée soit dans un tampon, soit dans de l'eau distillée.

Les solvants et diluants utilisés pour la confection de chaque solution mère d'antibiotique sont représentés dans le TABLEAU XI :

TABLEAU XI : Solvants et diluants des antibiotiques (83)

Antibiotiques	Solvants	Diluants
Ciprofloxacine	Eau distillée	Eau distillée
Gentamicine	Eau distillée	Eau distillée
Ceftriaxone	Tampon Phosphate pH6	Eau distillée ou Tampon Phosphate pH6
Amikacine	Eau distillée	Eau distillée
Ampicilline	Tampon Phosphate pH8	Eau distillée ou Tampon Phosphate pH8

Ainsi, la quantité de poudre ou de solvant, une fois obtenue, a permis de préparer la solution mère d'antibiotique de concentration finale égale à 10,240 mg/ml.

Celle-ci a été homogénéisée, filtrée, aliquotée puis congelée à -80°C avant son utilisation.

II. STANDARDISATION

II.1. Contrôle des souches

Le laboratoire doit conserver une série de souches de références dont une liste est proposée dans le TABLEAU XII :

TABLEAU XII : Souches de références proposées pour le contrôle de qualité (16)

Streptocoques	Staphylocoques
<i>Enterococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterococcus faecalis agalactiae</i>	<i>Micrococcus sp</i>
<i>Enterococcus faecalis ATCC 29212</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Strepto. D non entérocoques</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Streptococcus milleri</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
<i>Streptococcus equinus</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Streptococcus equi</i>	
<i>Streptococcus mutans</i>	
Entérobactéries	Mycoplasmes urogénitaux
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Ureaplasma urealiticum</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Shigella flexneri</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Citrobacter malonaticus</i>	
<i>Citrobacter freundii</i>	

Ces souches peuvent être obtenues dans le cadre du travail ordinaire, achetées dans le commerce ou être fournies par des laboratoires efficaces.

Par mesure de sécurité, la réidentification des souches bactériennes a été réalisée avant chaque manipulation.

Le schéma habituel pour l'identification des souches bactériennes a été utilisé.

En effet, les souches ont été réisolées sur des géloses ordinaires ou enrichies, puis identifiées par des galeries classiques complétées par des minigalleries d'identification.

II.2. Contrôle des milieux

Avant d'utiliser le milieu de culture, nous avons réalisé au préalable un contrôle de qualité de la stérilité et de l'efficacité.

- Test de stérilité

Il est nécessaire avant l'utilisation du milieu d'étude.

Un volume équivalent à 2 ml du milieu a été prélevé en tube stérile, sans inoculum, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le milieu est considéré comme stérile s'il y a absence de virage de l'indicateur coloré.

- Epreuve d'efficacité

Elle se traduit par la capacité du milieu à changer de coloration après test par les souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

La démarche à suivre lorsque des épreuves d'efficacité sont effectuées sur de nouveaux lots est la suivante :

- Préparer une suspension de la souche de référence avec un trouble à peine visible, équivalent à celui de l'étalon Mac Farland 0,5 et utiliser le contenu d'une anse comme inoculum.
- Laisser incuber pendant la durée habituelle, puis lire le résultat.
- Noter soigneusement le résultat.

L'utilisation des souches de référence est nécessairement testée dans les mêmes conditions pour valider la qualité des manipulations.

II.3. Antibiogrammes de contrôle

Afin de valider l'exactitude de nos résultats, des contrôles ont été réalisés à l'aide d'antibiogrammes standards avant chaque manipulation.

- **Principe**

L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques.

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie.

Le résultat pratique est la classification du microorganisme dans la catégorie Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) à chaque antibiotique.

- **Technique**

L'antibiogramme a été effectué sur milieu gélosé Mueller-Hinton.

Dans un premier temps, nous avons préparé une suspension d'opacité équivalente à l'échelle 0,5 Mac Farland dans de l'eau physiologique, à partir d'une culture de 24 heures. Puis, différents inocula ont été préparés en procédant à des dilutions en fonction de l'espèce recherchée :

- 1/100 pour les Staphylocoques et Streptocoques
- 1/1000 pour les Entérobactéries et les *Pseudomonas*

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile, imbibé de la suspension bactérienne précalibrée, passé sur toute la surface de la gélose par rotation de 90° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.

Enfin, des disques de papier buvard imprégné des antibiotiques à tester ont été déposés à la surface du milieu gélosé à l'aide de pinces en appuyant légèrement.

L'incubation a été faite dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Lecture et interprétation**

Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition (en millimètres) pour chaque antibiotique correspondant à une absence de culture, a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

Il convient de noter que :

- si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieure, la souche est Résistante.
- si le diamètre mesuré est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieure, la souche est Sensible.
- si le diamètre mesuré est compris entre les diamètres correspondant aux deux concentrations critiques, la souche est de sensibilité Intermédiaire.

Les CMI et profils de sensibilité obtenus sur plaques ont été comparés à ceux de l'antibiogramme standard afin de valider la qualité de nos résultats.

III. METHODE

III.1. Apprêtement des microplaques de sensibilité

Le pouvoir synergique des différentes associations d'antibiotiques ci-dessous, peut-être visualisé et quantifié au laboratoire par la technique de « l'Echiquier » :

Ceftriaxone - Gentamicine	:	CRO - GEN
Ceftriaxone - Amikacine	:	CRO - AMK
Ceftriaxone - Ciprofloxacin	:	CRO - CIP
Ampicilline - Gentamicine	:	AMP - GEN

Pour ce faire, nous avons pratiqué en série, des dilutions au demi des deux antibiotiques à tester dans un bouillon AM3 contenant 1g/L de glucose et 20 ml/L de Rouge de Phénol à 1%.

Ensuite, dans les 96 puits d'une microplaque, chacune des dilutions de l'un des antibiotiques a été réparti, seul ou en association avec chacune des dilutions de l'autre antibiotique.

La gamme de concentration est réalisée par la suite, selon une progression géométrique de raison 2; le volume final étant de 100 μ l.

III.2. Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé en réalisant une suspension de 4 à 5 colonies bien isolées au moyen d'une anse de platine, obtenues à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h.

Cette suspension de germes a été préparée extemporanément à partir d'eau physiologique de manière à obtenir une suspension d'opacité équivalente à 0,5 Mac Farland soit une concentration finale de 10^7 Unités Formant Colonies/ml (UFC/ml) de la souche à étudier sous un volume de 50 ml.

Afin d'approcher le mieux possible de la concentration désirée, les recommandations qui figurent dans le tableau suivant ont été suivies :

TABLEAU XIII: Recommandations pour la réalisation d'un inoculum égal à environ 10^7 UFC/ml (55)

Germes	Bouillon de dilution sous 50 ml	Souche pure à étudier en milieu liquide de 10ml (culture-bouillon de 4h agité au bain-marie à 37°C)
<i>Staphylococcus coagulase +</i>	Muëller-Hinton	0,6 ml
<i>Staphylococcus coagulase -</i>	Muëller-Hinton	1 ml
<i>Pseudomonas sp.</i>	Muëller-Hinton	1ml
Entérobactéries	Muëller-Hinton	0,6 ml
<i>Streptococcus sp.</i>	Muëller-Hinton éventuellement enrichi selon les besoins	2 ml

III.3. Ensemencement des plaques

L'inoculum ainsi obtenu a été transvasé dans les bacs à canaux, permettant à la multipipette d'en être chargée, puis transféré précautionneusement avec un quota d'inoculum, égal à 10 μ l, dans les cupules.

Une fois l'ensemencement effectué, les plaques ont été incubées à 37°C pendant 18 h.

Exemple pratique

Soit l'exemple d'une association de deux antibiotiques A et B vis-à-vis d'une souche bactérienne X donnée.

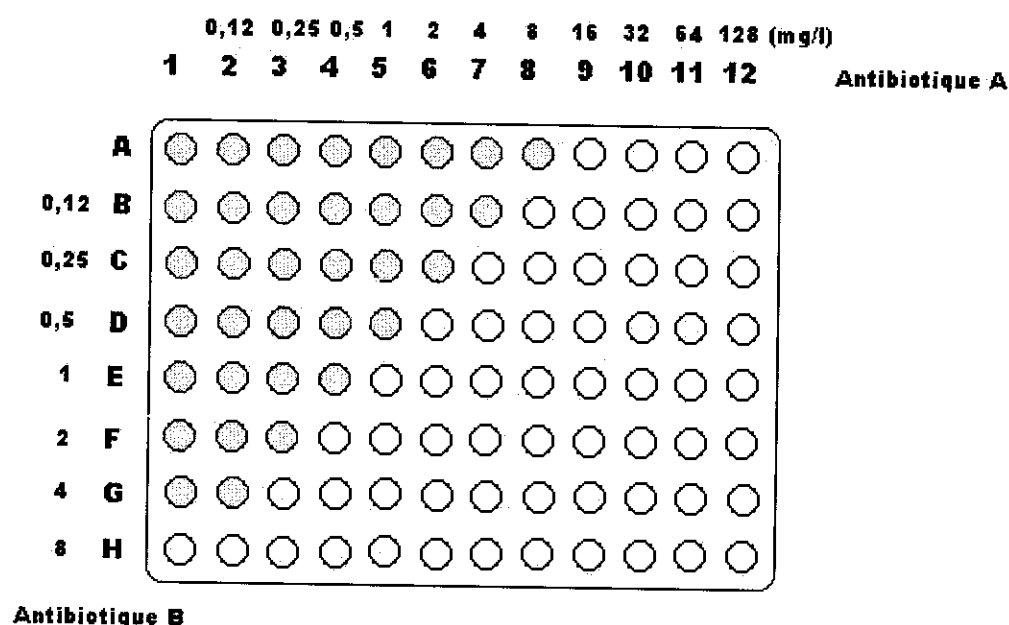
- A = antibiotique A
 B = antibiotique B
 X = souche quelconque

Le puits A1 constitue la cupule témoin.

Du puits A2 au puits A12, l'antibiotique A a été reporté de 0,12 à 128 mg/L.

Du puits B1 à H1, l'antibiotique B de 0,12 à 8mg/L.

Dans les autres puits, chaque concentration de l'antibiotique A est associée avec chacune des concentrations de l'antibiotique B.



FIC : CI/CMI

III.4. Résultat et interprétation

III.4.1 Lecture

Lorsqu'il y avait pousse, le glucose contenu dans le milieu était consommé par les bactéries, se traduisant par un phénomène d'acidification du milieu avec virage de l'indicateur coloré du rouge au jaune.

La lecture des plaques a consisté en la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Inhibitrice (CI) pour chaque antibiotique.

III.4.2 Interprétation

Nous avons ainsi constaté que la CMI de l'antibiotique A est de 16 mg/L et 8 mg/L pour l'antibiotique B.

Dans chaque rangée et dans chaque colonne, les plus faibles Concentrations Inhibitrices (CI) de chaque antibiotique sont relevées et rapportées à la CMI, ce qui permet de définir un $FIC = CI/CMI$ et un index des deux antibiotiques en association égal à :

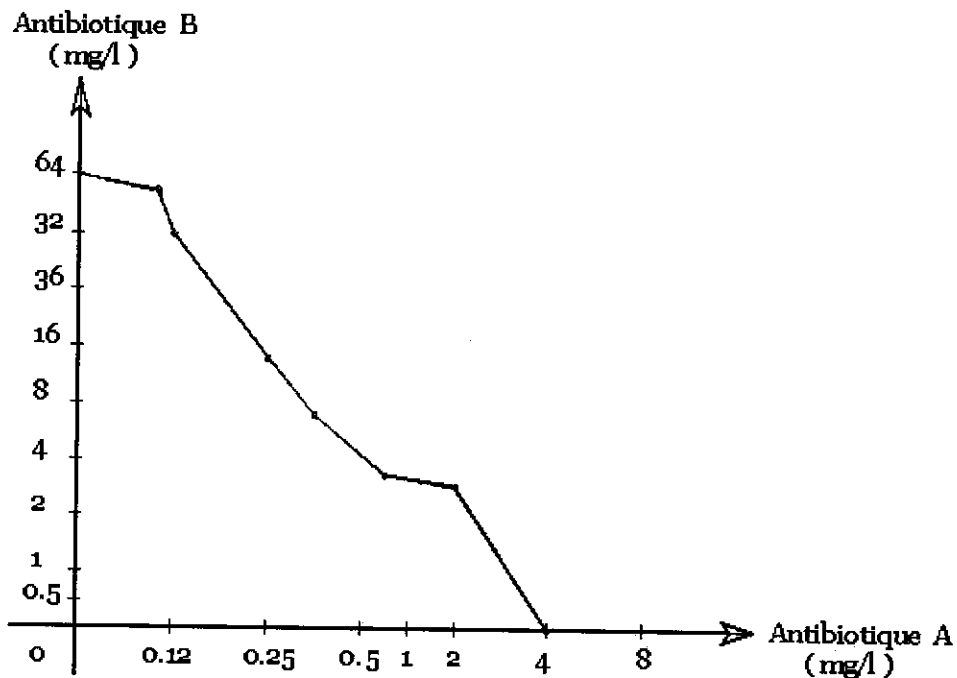
$$\frac{CI(A)}{CMI} + \frac{CI(B)}{CMI}$$

Cet index est calculé dans chaque rangée, mais seul le FIC index le plus bas est considéré comme caractéristique de l'association.

Pour que l'association soit considérée comme synergique, il faut que le FIC index soit inférieur à 1.

Si nous retenons comme caractéristique le FIC index le plus bas, nous constatons alors que l'association est très fortement synergique sur la souche.

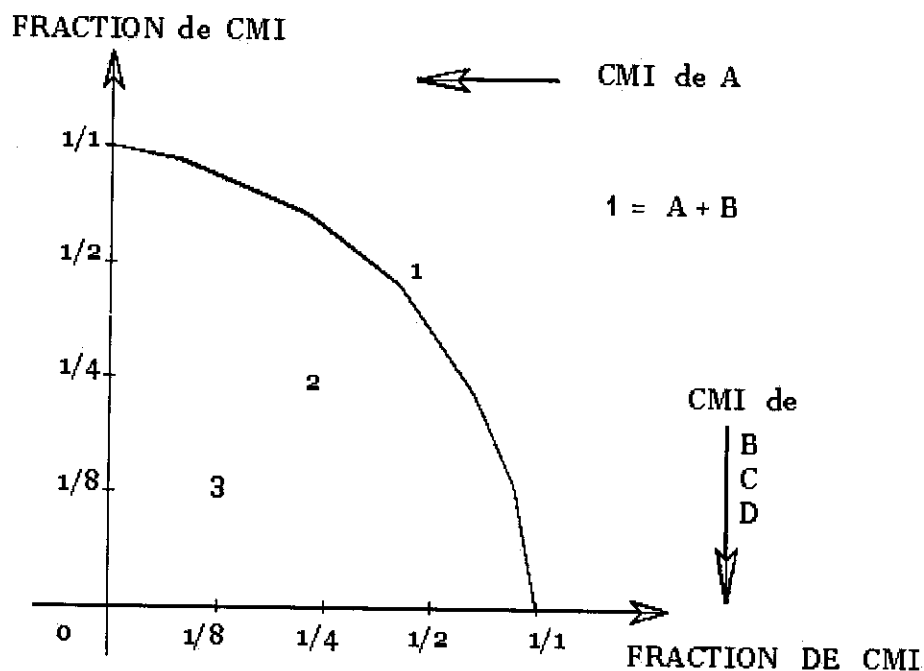
Si les différents points sont reportés sur un graphique, nous déterminons une courbe d'activité antibactérienne (ISOBOLOGRAMME) des fractions de CMI et des associations d'antibiotiques.



D'un point de vue pratique, nous concevons que sur le plan pharmacocinétique, deux antibiotiques associés et synergiques conservent plus longtemps leur activité antibactérienne au niveau du foyer infectieux ou l'acquièrent lorsqu'ils diffèrent in situ d'une concentration inférieure à leur CMI.

Dans l'exemple théorique ci-dessus, l'association des antibiotiques A+B est dite additive, car elle produit un effet antibactérien uniquement à une concentration égale à la moitié de la CMI de A et de B.

Les associations A+C et A+D sont synergiques (concentrations actives au moins inférieures au quart de la CMI) mais, celle de A+D est plus synergique que celle de A+C, car elle nécessite des concentrations deux fois plus faibles.



Les résultats observés en microplaque peuvent être rapportés sous forme de courbe (ISOBOLOGRAMME).

A noter qu'un index FBC (Fractionnal Bactericidal Concentration) peut-être calculé de la même façon avec les concentrations bactéricides.

III.5. Données de l'étude

III.5.1 Définition des variables

Durant cette étude, trois variables ont été prises en compte :

- La Concentration Inhibitrice (CI) qui est la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible.

- Le Fraction Inhibitory Concentration (FIC) qui a été obtenue à partir de la CI rapportée à la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) indiquée par le fabricant.
- La FIC index, qui est la somme des FIC des deux antibiotiques (A et B) associés.

Pour chaque souche testée, ces trois variables, déterminées par les antibiotiques seuls ou associés, ont permis de définir les interactions.

Ainsi, l'association est dite :

Synergique : Lorsque le FIC index est *inférieur ou égal à 0,5*

Additive : Lorsque le FIC index est *égal à 1*

Indifférente : Si le FIC index est *supérieur à 1*, mais *inférieur ou égal à 4*

Antagoniste : Si le FIC index est *supérieur à 4*

III.5.2 Mode de recueil des données

Les données ont été collectées au moyen d'une fiche standardisée non codifiée.

III.5.3 Circuit de l'information

Les données collectées sur la fiche ont été saisies à l'ordinateur au fur et à mesure de leur recueil.

Les deux supports (papier et électronique) seront conservés au laboratoire.

III.5.4 Analyse des données

Les données recueillies ont été analysées avec le logiciel WHONET 5.4

Juillet 2006.

RESULTATS
ET
COMMENTAIRES

I. RESULTATS DES CONTROLES

I.1. Tests de stérilité

I.1.1 Milieux de culture

Au bout de 24 heures d'incubation à l'étuve 37°C, nous n'avons constaté aucune pousse de bactéries sur les milieux de culture. Nous avons pu en conclure que les milieux étaient stériles.

De même, une absence de virage de l'indicateur coloré a pu être notée au bout de 24 heures d'incubation de l'échantillon d'AM3 qui est resté rouge.

Nous en avons donc conclu que ce milieu était stérile.

I.1.2 Tampons

Le même constat a été fait, aucune pousse de bactéries après 24 heures d'incubation à l'étuve 37°C ; les tampons étaient stériles.

I.2. Tests d'efficacité

Au bout de 18 heures d'incubation d'un échantillon du milieu AM3 testé par des souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) à l'étuve 37°C, un changement de coloration du rouge au jaune a été observé. Ceci nous a permis de dire que le milieu était efficace. De plus, le contrôle des souches de référence a pu être effectué avant chaque manipulation et dans les mêmes conditions afin de valider la qualité de nos travaux.

I.3. Antibiogrammes de contrôle

Durant notre étude, les antibiogrammes de contrôle réalisés au laboratoire pour l'ensemble des souches bactériennes ont donné les résultats consignés dans le tableau ci-dessous représentant le profil de sensibilité de chaque souche en fonction de l'antibiotique testé.

TABLEAU XIV : Résultats des antibiogrammes de contrôle

Antibiotiques Souches	Profil de sensibilité				
	Ceftriaxone	Gentamicine	Amikacine	Ampicilline	Ciprofloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i>	R	R	R	S	R
<i>Enterococcus faecalis</i>	R	I	R	S	S
<i>Salmonella typhi</i>	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	S	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	R	S	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	S	R	I

R : Résistante ;

S : Sensible ;

I : Intermédiaire

II. SENSIBILITE DES SOUCHES AUX DIFFERENTS

ANTIBIOTIQUES UTILISES

TABLEAU XV: Critères d'interprétation de la sensibilité selon les antibiotiques

Antibiotiques	Concentrations critiques (µg/ml)	
	Sensibles	Résistantes
Ceftriaxone	≤ 4	≥ 32
Gentamicine	≤ 4	≥ 8
Amikacine	≤ 8	≥ 16
Ampicilline	Inconstante	≥ 16
Ciprofloxacine	≤ 1	≥ 2

La technique utilisée a été celle de la CMI en plaque qui a consisté à déterminer la plus petite concentration d'antibiotique à partir de laquelle aucune culture n'est visible à l'oeil nu.

Cependant, cette technique a quand même présenté des limites par rapport aux CMI réalisées en boîte de gélose, car ne permettant pas de déterminer les concentrations à partir desquelles une souche est dite intermédiaire.

Par conséquent :

- La souche est résistante, ce qui s'est traduit par l'assimilation du glucose dans le milieu avec virage de l'indicateur coloré du rouge au jaune: c'est une culture positive ;

- Ou alors, la souche est sensible, dans ce cas, le glucose n'a pas été assimilé et la coloration initiale du milieu est restée la même traduisant une culture négative.

Par rapport à chaque antibiotique utilisé seul, un tableau illustrant la sensibilité de chacune des souches testées a été dressé :

TABLEAU XVI : Sensibilité des souches vis-à-vis des différents antibiotiques utilisés

Souches	Concentrations Minimales Inhibitrices ($\mu\text{g/ml}$)				
	CRO	GM	CIP	AMK	AMP
<i>S.aureus</i>	> 128	> 8	> 8	> 8	8
<i>E.faecalis</i>	> 128	> 8	1	> 8	4
<i>S.typhi</i>	0,12	0,5-1	0,12	1-2	0,12-0,25
<i>E.cloacae</i>	> 128	> 8	> 8	1	> 128
<i>E.coli</i>	> 128	> 8	1	> 8	> 128
<i>P.aeruginosa</i>	8-16	> 8	> 8	2-8	> 128
<i>K.pneumoniae</i>	> 128	> 8	8	8	> 128

- Sensibilité des souches vis-à-vis de la Ceftriaxone

Les souches testées ont manifesté une forte résistance par rapport à cet antibiotique au cours de notre étude. Pour la plupart des bacilles à Gram négatif du groupe des *Enterobacter*, notamment *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ou *Klebsiella pneumoniae*, des CMI supérieures à 128 $\mu\text{g/ml}$ ont été notées. L'absence de sensibilité des cocci à Gram positif était ici, un élément notoire. En somme, ces résultats ont laissé présager d'une relative inefficacité d'une antibiothérapie probabiliste à la Ceftriaxone.

- Sensibilité des souches vis-à-vis de la Gentamicine

La plupart des souches testées, à l'exception de *Salmonella typhi*, ont présenté une parfaite résistance à la Gentamicine.

- Sensibilité des souches vis-à-vis de la Ciprofloxacin

La Ciprofloxacin a rencontré une forte résistance après avoir été testée sur les Entérobactéries dont seuls *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* se sont avérés sensibles, avec des CMI respectives de 0,12 et 1. Cependant, *Enterococcus faecalis* s'est montré sensible à cet antibiotique, avec une CMI à la limite des valeurs critiques.

- Sensibilité des souches vis-à-vis de l'Amikacine

Les Entérobactéries seules ont présenté une bonne sensibilité vis-à-vis de cet antibiotique.

- Sensibilité des souches vis-à-vis de l'Ampicilline

L'Ampicilline a eu une très faible action sur les bacilles à Gram négatif en général, se traduisant par des CMI supérieures à 128 µg /ml. Concernant les cocci à Gram positif, une bonne efficacité de cet antibiotique a été observée.

Ainsi, en fonction des CMI retenues pour l'ensemble des souches par rapport à chaque antibiotique, nous avons pu en déduire que les résultats de nos tests étaient superposables à ceux des antibiogrammes de contrôle.

III. PROFIL DE SENSIBILITE AUX DIFFERENTES ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

Nous signalons à nouveau qu'avant chaque association, le contrôle des souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) a été réalisé afin de valider la qualité des manipulations effectuées.

De plus, il convient de rappeler que la valeur d'une association d'antibiotique est quantifiée par l'index FIC :

$$FIC = FIC A + FIC B = \frac{CMI \text{ de A avec B}}{CMI \text{ de A seul}} + \frac{CMI \text{ de B avec A}}{CMI \text{ de B seul}}$$

Une association est dite :

- Synergique : quand l'index FIC est inférieur ou égal à 0,75
- Additive : quand l'index FIC est égal à 1
- Indifférente : quand l'index FIC est strictement supérieur à 1 et ne dépasse pas 2
- Antagoniste : quand l'index FIC est strictement supérieur à 2.

III.1. Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XVII: Sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	-	-	-
Addition	-	-	-	1
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	-	-	-

ATB : Antibiotique ;

(-) : Indéterminé.

Ceftriaxone – Gentamicine : Cette association n'a pas été efficace sur la souche de *Staphylococcus aureus* testée.

Ceftriaxone – Amikacine : De même, cette association n'a pas eu d'effet sur la souche, ce qui s'est traduit par une résistance notoire de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de cette association.

Ceftriaxone – Ciprofloxacine : Aucun effet n'a été noté. La souche testée est résistante à cette association.

Ampicilline – Gentamicine : Cette association, quant à elle, a donné de bons résultats vis-à-vis de la souche testée, ce qui s'est traduit par un effet additif (FIC = 1).

III.2. Sensibilité d'*Enterococcus faecalis* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XVIII : Sensibilité d'*E. faecalis* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	-	-	0,5
Addition	-	-	-	-
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	-	4	-

Ceftriaxone - Gentamicine : La souche testée s'est montrée résistante à cette association d'antibiotiques.

Ceftriaxone - Amikacine : De même, cette association a été de faible efficacité sur la souche d'*Enterococcus faecalis* testée.

Ceftriaxone - Ciprofloxacine : Avec un FIC élevé, cette association a présenté un effet antagoniste sur la souche.

Ampicilline - Gentamicine : Cette association a donné les meilleurs résultats par l'obtention d'une bonne inhibition des souches avec un effet synergique.

III.3. Sensibilité de *Salmonella typhi* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XIX: Sensibilité de *S. typhi* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	0,62	0,53	-	0,3
Addition	-	-	1	-
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	-	-	-

Ceftriaxone – Gentamicine : Une bonne efficacité de l'association CRO-GM sur la souche de *Salmonella typhi* testée a été observée ; ce qui s'est traduit par un effet synergique.

Ceftriaxone – Amikacine : De même, l'effet de cette association a révélé un effet synergique sur la souche de Salmonelle testée avec un FIC égal à 0,53.

Ceftriaxone – Ciprofloxacine : La combinaison CRO-CIP aussi, a eu une bonne activité sur la souche testée avec un FIC égal à 1, ce qui s'est traduit par un effet additif.

Ampicilline – Gentamicine : Effet synergique de cette association sur la souche testée qui s'est avérée de bonne sensibilité.

III.4. Sensibilité d'*Enterobacter cloacae* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XX: Sensibilité d'*E. cloacae* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	-	-	-
Addition	-	-	-	-
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	4	-	-

La souche d'*Enterobacter cloacae* testée a fait preuve d'une forte résistance par rapport aux associations mises en œuvre.

En effet, trois des associations utilisées telles que l'association Ceftriaxone-Gentamicine, Ceftriaxone-Ciprofloxacine ou encore Ampicilline-Gentamicine se sont avérées inefficaces sur la souche.

Cependant, avec un FIC égal à 4, seule la combinaison Ceftriaxone-Amikacine a fait preuve d'un effet antagoniste vis-à-vis de cette souche.

III.5. Sensibilité d'*Escherichia coli* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XXI: Sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	-	0,5	-
Addition	-	-	-	-
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	-	-	-

Ceftriaxone - Gentamicine : Inefficace sur la souche d'*E.coli* testée qui s'est avérée résistante à cette association.

Ceftriaxone –Amikacine : De même, cette souche a manifesté une forte résistance par rapport à l'association CRO-AMK.

Ceftriaxone-Ciprofloxacin : L'action de cette combinaison d'antibiotiques a manifesté de très bons résultats vis-à-vis de la souche testée. Ainsi, avec un FIC égal à 0,5, son effet est synergique sur la souche d'*Escherichia coli*.

Ampicilline – Gentamicine : Malheureusement, cette association s'est aussi avérée inefficace sur la souche testée.

III.6. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLERAU XXII : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	0,53	-	-
Addition	1	-	-	-
Indifférence	-	-	2	-
Antagonisme	-	-	-	-

Ceftriaxone – Gentamicine : Une bonne efficacité de l'association CRO-GM a été observée sur la souche de *Pseudomonas aeruginosa* testée en donnant un effet additif avec un FIC égal à 1.

Ceftriaxone – Amikacine : Cette association a donné les meilleurs résultats vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* se traduisant par un effet synergique.

Ceftriaxone – Ciprofloxacine : Faible efficacité de cette combinaison d'antibiotiques sur la souche testée. Avec un FIC égal à 2, l'association CRO-CIP vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* est indifférente.

Ampicilline – Gentamicine : Activité nulle de cette association sur la souche testée qui s'est avérée résistante à l'ensemble.

III.7. Sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* aux différentes associations d'antibiotiques

TABLEAU XXIII: Sensibilité de *K. pneumoniae* vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB Comportement de l'association d'ATB	Fraction Inhibitory Concentration			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Synergie	-	0,5	0,5	-
Addition	-	-	-	-
Indifférence	-	-	-	-
Antagonisme	-	-	-	-

Ceftriaxone – Gentamicine : Une forte résistance de la souche testée vis-à-vis de cette association d'antibiotiques a été observée durant notre étude.

Ceftriaxone – Amikacine : Cette association a été plus efficace sur *Klebsiella pneumoniae*. Avec un FIC de 0,5, elle a manifesté un effet synergique sur la souche testée.

Ceftriaxone – Ciprofloxacine : De même, on a noté une excellente activité de cette association vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* avec un FIC égal à 0,5, c'est-à-dire, un effet synergique.

Ampicilline – Gentamicine : La souche de *Klebsiella* testée s'est avérée résistante à cette combinaison d'antibiotiques.

III.8. Sensibilité de l'ensemble des souches aux différentes associations d'antibiotiques

Sur un effectif de sept souches bactériennes testées dont cinq bacilles à Gram négatif et deux cocci à Gram positif, le comportement des différentes associations d'antibiotiques a pu être résumé comme suit :

TABLEAU XXIV : Sensibilité de l'ensemble des souches vis-à-vis des associations d'antibiotiques utilisées

Association d'ATB	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
Comportement de l'association d'ATB				
Synergie	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Salmonella typhi</i>
Addition	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Indifférence	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Antagonisme	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	-

L'association Ceftriaxone-Amikacine a été une association très efficace durant cette étude. Son activité a été remarquable en donnant sur l'ensemble des souches trois cas d'effets synergiques, bien qu'un effet antagoniste ait été noté.

Aussi, l'association Ceftriaxone-Ciprofloxacin s'est avérée être très active sur l'ensemble des souches avec deux cas de synergie, un cas d'addition, un cas d'indifférence et un cas d'antagonisme.

Nous avons noté, par conséquent la bonne efficacité de ces deux associations d'antibiotiques sur les Entérobactéries testées.

Concernant l'association Ampicilline-Gentamicine, les résultats obtenus ont fait preuve d'une assez bonne efficacité avec deux effets synergiques et un effet additif. Cette association s'est présentée durant notre étude comme l'association de choix sur les cocci à Gram positif testés.

Cependant, l'association Ceftriaxone-Gentamicine, avec seulement un effet synergique constaté et un cas d'addition, s'est avérée beaucoup moins active que les autres combinaisons d'antibiotiques testées sur l'ensemble des souches.

IV. REPETABILITE

IV.1. Paramètres de répétabilité

Soit Y_{ij} les données dans les groupes d'essais avec n_j répétitions.

- Moyenne m_j des n_j répétitions du groupe j :

$$m_j = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} Y_{ij}}{n_j}$$

- Variance S_j^2 des n_j répétitions du groupe j :

$$S_j^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - m_j)^2}{n_j - 1}$$

- L'écart-type à l'intérieur du groupe j est donné par :

$$s_j = \sqrt{S_j^2}$$

- Coefficient de variation de la répétabilité :

$$Cv = \frac{S_j \cdot 100}{m_j}$$

IV.2. Résultats des tests

IV.2.1 Staphylococcus aureus

TABLEAU XXV : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *S. aureus*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	R	R	R	1
II	R	R	R	1
III	R	R	R	1
Moyenne des FIC	-	-	-	1
Variance	-	-	-	0
Ecart-type	-	-	-	0
Coefficient de variation	-	-	-	0

R : Résistant

(-) : indéterminé

Pour chaque essai, le FIC index le plus bas a été choisi pour le calcul du coefficient de variation.

La variance de répétabilité ainsi que le coefficient de variation observés durant cette étude étaient insignifiants; par conséquent, les essais de répétabilité de la méthode ont été satisfaisants.

Pour certaines associations, une résistance a été notée sur toute la plaque. Ce qui a rendu impossible le calcul d'un FIC et par conséquent, la détermination de la moyenne.

Cependant, vu que le même profil est apparu à tous les essais, le coefficient de variation est moindre et donc, la méthode répétable.

IV.2.2 Enterococcus faecalis

TABLEAU XXVI : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *E. faecalis*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	R	R	4	0,5
II	R	R	4	0,5
III	R	R	4	0,5
Moyenne des FIC	-	-	4	0,5
Variance	-	-	0	0
Ecart-type	-	-	0	0
Coefficient de variation	-	-	0	0

La variance à l'intérieur des groupes était négligeable ; de plus, les coefficients de variation ont été largement inférieurs aux valeurs standards, attestant de la répétabilité de la méthode.

La même observation est faite sur les associations ayant présenté une résistance totale.

IV.2.3 Salmonella typhi

TABLEAU XXVII : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *S. typhi*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	0,62	0,53	1	0,3
II	0,74	0,53	1	0,3
III	0,74	0,56	1	0,3
Moyenne des FIC	0,7	0,54	1	0,3
Variance	0,0048	0,0003	0	0
Ecart-type	0,0692	0,0173	0	0
Coefficient de variation	9,897	3,207	0	0

La variance de répétabilité à l'intérieur de chaque groupe était négligeable et les coefficients de variation observés inférieurs à 15 %. Ces résultats ont démontré la fidélité de la méthode lorsque la procédure a été répétée dans les mêmes conditions.

IV.2.4 Enterobacter cloacae

TABLEAU XXVIII : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *E. cloacae*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	R	4	R	R
II	R	4	R	R
III	R	4	R	R
Moyenne des FIC	-	4	-	-
Variance	-	0	-	-
Ecart-type	-	0	-	-
Coefficient de variation	-	0	-	-

Un coefficient de variation très faible, appuyé par une variance insignifiante observée avec toutes les associations sur cette souche ont démontré que les essais de répétabilité étaient satisfaisants.

IV.2.5 Escherichia coli

TABLEAU XXIX : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *E. coli*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	R	R	0,5	R
II	R	R	0,5	R
III	R	R	0,5	R
Moyenne des FIC	-	-	0,5	-
Variance	-	-	0	-
Ecart-type	-	-	0	-
Coefficient de variation	-	-	0	-

Les valeurs du coefficient de variation et de la variance ont attesté de la répétabilité de la méthode lorsque les procédures ont été effectuées dans les mêmes conditions.

IV.2.6 *Pseudomonas aeruginosa*

TABLEAU XXX : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *P. aeruginosa*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	1	0,53	2	R
II	1	0,53	2	R
III	1	0,53	2	R
Moyenne des FIC	1	0,53	2	-
Variance	0	0	0	-
Ecart-type	0	0	0	-
Coefficient de variation	0	0	0	-

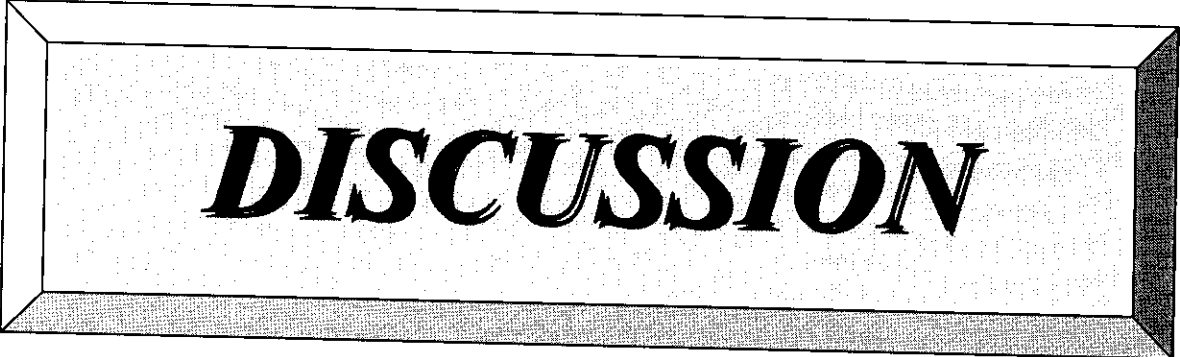
La variance observée à l'intérieur des groupes dans ce cas n'est pas significative. Les essais de répétabilité ont été satisfaisants vu la valeur des coefficients de variation.

IV.2.7 Klebsiella pneumoniae

TABLEAU XXXI : Résultats des tests de répétabilité des différentes associations d'antibiotiques sur *K. pneumoniae*

ATB Essais	Profil de sensibilité			
	CRO-GM	CRO-AMK	CRO-CIP	AMP-GM
I	R	0,5	0,5	R
II	R	0,5	0,5	R
III	R	0,5	0,5	R
Moyenne des FIC	-	0,5	0,5	-
Variance	-	0	0	-
Ecart-type	-	0	0	-
Coefficient de variation	-	0	0	-

La variance de répétition à l'intérieur de chaque groupe d'essai a été insignifiante. Les coefficients de variation étaient très inférieurs à la valeur standard.



DISCUSSION

Dans cette partie de notre travail, nous confronterons nos résultats à ceux des autres travaux portant sur le même sujet. Les résultats que nous allons commenter doivent être considérés comme propres à l'écosystème bactérien dakarois de 2007-2008. Il n'est pas étonnant d'y relever des différences, parfois importantes, avec d'autres études menées ailleurs, d'autant plus que les méthodologies utilisées ne sont pas les mêmes.

Concernant la sensibilité des souches aux antibiotiques, il faut noter que la plupart des souches sélectionnées pour cette étude se sont avérées résistantes à au moins un des antibiotiques parmi ceux des associations.

I. ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

Quelque soit l'objectif recherché, l'association doit avoir un comportement additif ou mieux, présenter une synergie.

Les associations antagonistes, dont l'effet global est moins bon que celui de l'antibiotique isolé, doivent être évitées quand il s'agit :

- d'infections très graves où le risque d'échec thérapeutique doit être minimisé (infections néonatales, infections nosocomiales sévères, choc infectieux) ;
- d'infections mixtes (infections intra-abdominales, gynécologiques).

I.1. Association Aminocide – β -lactamine

Largement utilisé en thérapeutique anti-infectieuse, le choix du groupe d'antibiotiques est fonction du germe (33). Deux catégories d'associations ont été souvent citées dans la littérature des associations efficaces sur de nombreux germes (13, 53).

La recherche de l'efficacité thérapeutique croissante a conduit à associer tous les groupes de Céphalosporines aux Aminosides.

Les meilleures associations à effet synergique concernent une Céphalosporine de troisième génération et un Aminoside. Ceci s'explique par une efficacité plus élevée des Céphalosporines de troisième génération dont la Ceftriaxone d'une part (41, 53), d'autre part de certains Aminosides (Amikacine, Gentamicine) (23, 47).

I.1.1 Association Aminocide – Céphalosporine de troisième génération

Types: Ceftriaxone - Gentamicine
Ceftriaxone - Amikacine

De notre étude, il découle que :

- L'association Ceftriaxone-Gentamicine n'est pas indiquée pour les cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*). Les taux de résistance atteignent le maximum de 100% avec les deux souches testées.

Ces deux données sont suffisantes pour ne pas utiliser cette association dans le traitement des infections dues aux cocci à Gram positif multirésistantes.

Cette inefficacité a été décrite par d'autres auteurs (47, 70).

Certaines souches de Streptocoques, en particulier d'Entérocoques, présentent un Haut Niveau (HN) de résistance aux Aminosides, dû essentiellement à l'acquisition d'une enzyme modificatrice. Ces enzymes sont voisines, sinon identiques à celles détectées chez *Staphylococcus aureus*.

Et lorsqu'une souche présente ce Haut Niveau de résistance aux Aminosides, l'association avec une β -lactamine n'est plus synergique (70). Or, ce haut niveau de résistance a aussi été noté avec la Gentamicine.

Pour les Entérobactéries testées, l'association Ceftriaxone-Gentamicine est restée inefficace sur *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*.

Par contre, son efficacité est améliorée chez *Salmonella typhi* pour laquelle on observe un effet synergique avec un FIC égal à 0,62. Cette amélioration est également notée chez *Pseudomonas aeruginosa* avec un effet additif montrant que l'association Ceftriaxone-Gentamicine peut-être utilisée dans les infections sévères à *Pseudomonas aeruginosa*.

- Bien que l'association Ceftriaxone-Amikacine soit du même genre que celle de la Ceftriaxone-Gentamicine, il est noté parfois une plus grande efficacité avec la première.

Cette constatation est nette avec la souche de Klebsielle multirésistante, pour laquelle un effet synergique est noté, contrairement à l'association Ceftriaxone-Gentamicine.

Bon comportement également de *Salmonella typhi* et de *Pseudomonas aeruginosa* qui réagissent très favorablement à l'association Ceftriaxone-Amikacine avec des effets synergiques (FIC = 0,53).

Cependant, avec un effet antagoniste (FIC = 4), *Enterobacter cloacae*, a été entièrement hostile à cette association.

Il en est de même pour *Escherichia coli*, qui s'est avéré résistant à l'association Ceftriaxone-Amikacine.

Ainsi, il demeure quand même important d'émettre certaines réserves quant à l'utilisation en première intention de l'association Ceftriaxone-Amikacine dans les infections sévères à Entérobactéries comme il a été

bien décrit dans la littérature (37, 48, 112), même si celle-ci s'est avérée efficace sur certaines souches multirésistantes durant notre étude.

Tout comme Ceftriaxone-Gentamicine, l'association Ceftriaxone-Amikacine s'est montrée inefficace sur les cocci à Gram positif testés.

Il existe une étroite relation entre la résistance aux β -lactamines et celle aux Aminosides, ce qui pose de manière plus aiguë les problèmes liés au traitement des souches multirésistantes.

Plusieurs mécanismes sont impliqués : l'imperméabilité, la sécrétion d'enzymes et la modification de la cible aiguë (15).

I.1.2 Association Aminosite –Pénicilline

Type : Ampicilline-Gentamicine

Cette association semble être l'association de choix pour traiter une infection à *Staphylococcus aureus* multirésistante avec un FIC égal à 1, traduisant un effet additif.

C'est ce qu'on constate dans la littérature, ce qui confirme nos résultats (55).

Concernant *Enterococcus faecalis*, l'association Ampicilline-Gentamicine a montré une bonne efficacité résultant d'un effet synergique avec un FIC de 0,5. Cette efficacité contraste avec le Haut Niveau de Résistance à la Gentamicine décrit par plusieurs auteurs dans des travaux récents avec KECHRID A. et COLL. puis bien après par FRAIMOW S.H. et COLL.

Ce fait atteste que l'association Ampicilline-Gentamicine est plus efficace sur la souche que les deux antibiotiques pris isolément. Les Entérobactéries testées ont révélé une forte résistance vis-à-vis de cette association.

I.2. Association Quinolone – β -lactamine

Type : Ceftriaxone-Ciprofloxacin

Devant l'émergence des bactéries résistantes à la fois aux Quinolones et aux β -lactamines, la recherche de l'élargissement du spectre a conduit à associer aux Quinolones, les β -lactamines.

Les Quinolones de deuxième génération ont permis d'avoir une bonne efficacité, quand on les a associées avec les Céphalosporines de troisième génération.

Nous avons constaté avec nos travaux, que l'effet de l'association Ceftriaxone-Ciprofloxacin a été bon.

En effet, seules deux souches ont été totalement réfractaires à cette association d'antibiotiques: *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter cloacae*. Cependant, il est important de voir le comportement détaillé des effets de l'association vis-à-vis des différentes souches étudiées.

- Un excellent effet synergique de l'association avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, pour des FIC de 0,5.
- L'effet additif est obtenu pour la souche de Salmonelle.
- Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, une indifférence est observée, se traduisant par un FIC assez élevé (FIC = 2).

Enfin, de faible efficacité, l'association Ceftriaxone-Ciprofloxacin s'est manifestée par un effet antagoniste vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis*.

Ainsi, avec 71% d'effets inhibiteurs sur l'ensemble des souches, son efficacité fait que cette association peut être préconisée dans le traitement des infections bactériennes sévères à souches multirésistantes.

Ces résultats peuvent confirmer ceux qui existaient déjà dans la littérature (53) et s'avèrent particulièrement encourageants en cas de traitement présomptif, avant les résultats de la culture et de l'antibiogramme, d'autant plus qu'un effet synergique est observé dans certains cas défavorables (bactérie résistante à l'un des antibiotiques).

L'association s'est révélée efficace sur des germes présentant un haut niveau de résistance comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ou *Pseudomonas aeruginosa*.

II. STANDARDISATION DE L'ETUDE DE LA SENSIBILITE IN VITRO

Toute valeur expérimentale est entachée d'une incertitude de mesure qui limite l'applicabilité de la méthode utilisée. La standardisation étudie la fiabilité et les performances de la méthode d'essai.

II.1. Choix de la méthode d'étude (22)

Dans le cadre de nos travaux, la technique d'étude par dilution en milieu liquide ou technique de « l'Echiquier » a été utilisée.

Cette méthode a permis de quantifier l'interaction de deux antibiotiques A et B en réalisant l'association d'une gamme de concentrations A et B selon une progression géométrique de raison 2.

Cependant, la fiabilité de nos résultats peut-être influencée par de nombreux paramètres devant être rigoureusement contrôlés :

- ✓ Les milieux de culture : le choix des milieux utilisés est primordial pour la qualité des résultats.

Ils doivent permettre la croissance de nombreuses bactéries et ne doivent pas contenir d'inhibiteurs des antibiotiques.

La composition et le pH des milieux de culture interfèrent avec l'activité de plusieurs antibiotiques.

Ainsi le pH retenu doit être compris entre 7,2 et 7,4, valeur qui permet une bonne croissance bactérienne et qui réalise un compromis pour l'activité des antibiotiques.

- ✓ Le solvant et le diluant : les solutions mères d'antibiotiques sont généralement préparées à partir de quantités bien déterminées de poudre d'antibiotiques, diluées soit dans un tampon (tampon Phosphate pH6 et pH8) soit dans de l'eau distillée.

Les solutions mères sont conservées à - 80°C.

- ✓ Les souches de référence : la technique doit être régulièrement contrôlée avec des souches de référence. Celles-ci sont choisies parmi les souches de référence répertoriées dans les instituts spécialisés : ATCC (American Type Culture Collection). *Escherichia Coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ont été utilisées pour cette étude.

- ✓ La densité de l'inoculum bactérien lors de l'apprêtement des plaques est un élément primordial. Elle doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou par comparaison avec un étalon d'opacité (échelle de Mac Farland).

Durant notre étude, chaque suspension de germes a été préparée extemporanément de façon à obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mac Farland (10^7 UFC/ml) de la souche à étudier sous un volume précis de 0,50 ml.

- ✓ La température et la durée d'incubation des microplaques de sensibilité doivent être fixes. Pour la majorité des bactéries et dans notre cas, l'incubation a été effectuée à 35-37°C pendant 18-24 heures dans une atmosphère normale.

Le maintien de la qualité de tous les paramètres impliqués dans le choix de la méthode d'étude doit être vérifié avant chaque manipulation.

Si des résultats corrects ne sont pas obtenus, des mesures correctives sont mises en place.

II.2. Avantages et limites

A temps fixe, la technique de l'Echiquier est la plus complète lors de la détermination de l'activité de différentes associations d'antibiotiques.

Cependant, cette technique est la plus fastidieuse à mettre en œuvre ; elle ne se réalise pas en pratique courante et est plutôt réservée à des laboratoires spécialisés. De plus, il existe des difficultés techniques rencontrées au cours des travaux liées à la standardisation de l'inoculum, à la précision des volumes transférés, à la composition des milieux utilisés, au transfert d'antibiotiques particulièrement important lorsque les tests sont réalisés sur des bactéries à CMI élevée.

Il faut noter par ailleurs que toutes les bactéries ne peuvent être étudiées en milieu liquide et il est parfois indispensable de revenir à la méthode d'étude en milieu gélosé pour l'étude de certains mécanismes de résistance.

II.3. Tests de répétabilité

Toute méthode d'analyse doit être validée pour démontrer qu'elle correspond bien à l'usage pour lequel elle est prévue.

Il existe plusieurs critères de validation des tests microbiologiques, cependant, dans le cadre de notre étude, nous nous sommes limités à un seul critère de validation qui est la répétabilité.

Rappelons que chaque manipulation a été réalisée au préalable selon la même méthode de dilution en milieu liquide, sur des échantillons de référence, dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même équipement.

Ce critère de validation a surtout exploité le paramètre de fidélité exprimé en terme de variance, d'écart-type, et de coefficient de variation (62).

La précision de la méthode est donnée par la valeur du coefficient de variation qui apprécie l'écart-type et la moyenne des FIC pour chaque association par rapport à chacune des souches sur trois essais.

Puis, nous avons déterminé l'écart-type qui caractérise la précision d'un résultat isolé et permet de calculer le coefficient de variation (10, 35, 40).

Les résultats du calcul des différents essais des associations testées sur chaque souche ont été résumés dans le tableau suivant :

TABLEAU XXXII : Résultats du calcul des essais de répétabilité de la méthode d'étude des associations d'antibiotiques sur l'ensemble des souches testées

Associations d'ATB	CRO-GM				CRO-AMK				CRO-CIP				AMP-GM			
	mj	Sj ²	Sj	Cv	mj	Sj ²	Sj	Cv	mj	Sj ²	Sj	Cv	mj	Sj ²	Sj	Cv
Souches																
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0	0	0	0,5	0	0	0
<i>Salmonella typhi</i>	0,7	0,0048	0,069	9,897	0,54	0,0003	0,0173	3,207	1	0	0	0	0,3	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	-	4	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0	0	0	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	0	0	0,53	0	0	0	2	0	0	0	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	0,5	0	0	0	0,5	0	0	0	-	-	-	-

Légende : mj : Moyenne des nj répétitions du groupe j ; Sj² : Variance des nj répétitions du groupe j ; Sj : Ecart-type à l'intérieur du groupe j ; Cv : Coefficient de variation de la répétabilité. ;

Les résultats obtenus ont permis de constater que les valeurs des écart-types sont insignifiantes.

De plus, les valeurs des coefficients de variation, très faibles, de l'ordre de 0-9 %, soit inférieurs à 15 %, ont été jugées satisfaisantes. Ce qui permet de dire que la méthode utilisée pour cette étude est répétable et précise.

Par conséquent, nous pouvons conclure, compte tenu des valeurs obtenues que la méthode de « l'Echiquier » ou méthode d'étude *in vitro* des associations d'antibiotiques testés en milieu liquide est une méthode fiable.

Il faut rappeler que la méthode est aussi liée à la stabilité des réactifs utilisés, des milieux de culture et des substances de référence. De plus, il faut noter que les poudres d'antibiotiques utilisées ont été conservées entre 4 et 5°C.

La standardisation n'est cependant pas une opération que l'on effectue une fois pour toutes. Même lorsque les méthodes d'essais normalisées sont considérées comme validées, tout laboratoire doit apporter la preuve que la méthode est maîtrisée en interne.

CONCLUSION

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

Cependant, l'émergence de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques est de plus en plus fréquente dans nos structures hospitalières.

Plusieurs facteurs sont à l'origine de ce phénomène :

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

L'étude que nous avons menée au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec, nous a édifiés sur l'opportunité de l'utilisation de certaines associations binaires d'antibiotiques.

En effet, la nécessité d'une prescription d'association d'antibiotiques fut empirique sans que leur efficacité ait toujours été démontrée.

C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'étudier le comportement de sept souches bactériennes multirésistantes vis-à-vis de cinq antibiotiques utilisés en monothérapie et en associations.

Ces souches bactériennes sont réparties comme suit :

Cocci à Gram positif

Staphylococcus aureus

Enterococcus faecalis

Bacilles à Gram négatif

Salmonella typhi

Enterobacter cloacae

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Klebsiella pneumoniae

La recherche de la sensibilité par la détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) a été utilisée pour étudier le comportement des souches vis-à-vis des solutions d'antibiotiques diluées dans de l'AM3 (Antibiotic Medium 3).

Ces antibiotiques étaient les suivants :

- Ceftriaxone
- Gentamicine
- Amikacine
- Ciprofloxacine
- Ampicilline

L'activité *in vitro* de nos associations binaires d'antibiotiques a été évaluée par la bactériostase et la bactéricidie. Cette dernière a été plus approfondie dans d'autres travaux.

La recherche de l'effet bactériostatique a été explorée grâce à la technique de « l'Echiquier ».

❖ **Concernant la sensibilité des souches par rapport aux antibiotiques isolés**

L'étude des CMI des différents antibiotiques sur nos souches a indiqué :

- Un haut niveau de résistance à la Ceftriaxone retrouvé aussi bien chez les cocci à Gram positif que chez la plupart des Entérobactéries testées.
- A l'exception de certaines bactéries (cocci à Gram positif, *Escherichia coli*), les souches ont présenté une bonne sensibilité aux Aminosides avec une efficacité supérieure pour l'Amikacine.
- Une bonne activité *in vitro* de la Ciprofloxacine a aussi été observée sur certains germes étudiés : *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhi* inhibés à des CMI respectives de 1 et 0,12 µg/ml.
Néanmoins, *Staphylococcus aureus* et les autres bacilles à Gram négatif testés ont manifesté une forte résistance à cet antibiotique.
- Un mauvais profil de sensibilité des bacilles à Gram négatif à l'Ampicilline a été noté. Cependant, les cocci à Gram positif testés se sont avérés très sensibles à cette molécule.

❖ **En ce qui concerne l'activité *in vitro* des associations d'antibiotiques**

L'étude des CMI des différents antibiotiques sur nos souches a montré que :

- Les combinaisons Ceftriaxone-Gentamicine et Ceftriaxone-Amikacine sont à éviter dans le cas des infections dues aux cocci à Gram positif testés car, ces souches ont manifesté une forte résistance tant bien

envers ces associations qu'envers chacun des antibiotiques pris séparément.

Pour les bacilles à Gram négatif, les résultats ont été variables :

- L'association Ceftriaxone-Amikacine a été très efficace durant cette étude; elle a manifesté une bonne activité envers *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* pour lesquelles un effet synergique a été observé, bien qu'un léger effet antagoniste ait été décelé avec *Enterobacter cloacae*.
- L'association Ceftriaxone-Gentamicine s'est avérée efficace sur deux souches uniquement : *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des effets synergique et additif.

Les autres souches se sont révélées résistantes à cette association.

- L'association Ceftriaxone-Ciprofloxacine a aussi été d'une bonne activité sur l'ensemble des Entérobactéries.

Cette efficacité est d'autant plus intéressante qu'elle s'exerce sur des souches supposées très résistantes :

- Effet synergique sur *Escherichia coli* (FIC = 0,5) et *Klebsiella pneumoniae* (FIC = 0,5), soit un taux de sensibilité de 29 % par rapport à l'ensemble des germes testés.
- Effet additif sur *Salmonella typhi* (FIC = 1).
- Effet indifférent sur *Pseudomonas aeruginosa* (FIC = 2).

Seul *Enterococcus faecalis* s'est montré tenace avec un effet antagoniste vis-à-vis de cette combinaison qui, en plus de la résistance observée chez *Staphylococcus aureus* pose une véritable réflexion quant à son utilisation dans les infections sévères à cocci Gram positif multirésistants.

- La combinaison Ampicilline-Gentamicine au contraire, semble être l'association de choix sur les cocci à Gram positif multirésistants testés, car la somme des effets additif et synergique est de 100 %.

Les autres souches n'ont pas donné de bons résultats.

L'ensemble des travaux entrepris sur les associations d'antibiotiques à savoir Ceftriaxone-Gentamicine, Ceftriaxone-Amikacine, Ceftriaxone-Ciprofloxacin et Ampicilline-Gentamicine a eu pour but de standardiser une méthode d'étude *in vitro* de ces associations sur des souches multirésistantes par un contrôle de qualité et par des tests de répétabilité.

Les normes d'assurance qualité ont été respectées à toutes les étapes de nos manipulations en passant par le contrôle des appareils utilisés, des milieux de culture, des réactifs et des souches de référence.

Ainsi, à travers les paramètres de répétabilité, nous avons confirmé la précision de la méthode par la valeur du coefficient de variation généralement comprise entre 0 et 9,897 %. L'écart-type a permis de caractériser la précision d'un résultat isolé.

Au décours de cette étude, nous pouvons donc dire que notre méthode d'analyse est fiable, efficace et répétable.

De tels procédés d'étude des associations d'antibiotiques s'imposent dans les laboratoires de biologie médicale et dans certaines situations d'urgence face à un germe multirésistant afin d'assurer la qualité des traitements dispensés.

En effet, partout dans le monde, particulièrement dans les pays en voie d'expansion comme le nôtre, le phénomène de résistance aux antibiotiques progresse souvent plus vite que le développement de nouvelles classes d'antibiotiques, faisant de certaines bactériémies, des urgences graves.

A nos jours, aucune solution simple contre la résistance aux antibiotiques n'existe.

Il faudrait plusieurs années pour seulement sensibiliser les acteurs du milieu hospitalier à ce phénomène dont la prise de conscience remettrait en cause l'utilisation et la sur-utilisation intempestive de certains antibiotiques seuls ou en association.

Les recherches doivent se poursuivre afin de mieux comprendre le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques et pour cela, il faudra penser à valider notre méthode d'étude par les critères de reproductibilité et de linéarité.

Entre-temps, diverses mesures pourraient éventuellement exercer un effet bénéfique pour contrer l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques à savoir l'étude de la sélection de la résistance potentielle des nouveaux composés et des classes d'antibiotiques, ce qui nécessite :

- ✓ la sélection des patients à être traités ou non,
- ✓ la sélection du meilleur antibiotique (spectre, effets secondaires, résistance),
- ✓ l'utilisation de la dose optimale; fréquence et durée du traitement.

BIBLIOGRAPHIE

1- ACAR J. F., BUU-HOI A. Y.

Resistance patterns of important Gram positive pathogens.
J. Antimicrob. Chemother., 1988; 22, Supp.c.

2- APARICIO P., RICHARDSON J., MARTIN S., VIDEL A., MARPLES R. AND COOSON B. D.

An epidemic Methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* in Spain.
Epidemiol. Infect., 1992; 108: 287-298.

3- ARTHUR M. ET AL.

Technique d'étude du support génétique de la résistance aux antibiotiques.
L'antibiogramme.mpc.Vidéon, 1^{ère} édition, Paris, 1985; 251-305.
J. Méd. Microbiol., 1989; 28:73-83.

4- ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES OU MONOTHERAPIE EN REANIMATION CHIRURGICALE ET EN CHIRURGIE.

Conférence d'experts
1999-texte court
www.urgences-serveurs.fr
(consulté le 25/05/08)

5- AUJARD Y.

Traitement des infections néonatales : Place des Céphalosporines.
La presse médicale, 1987; 43(16): 2176-2179.

6- BA S.

Phénotype des souches de Streptocoques sensibles aux Aminosides.
Thèse de pharmacie, Dakar, 1985; N°44.

7- BACTERIES

Structure bactérienne
Mise à jour 11/08/07
Antibiotiques
Résistance
Mise à jour 11/08/07
www.anne.decoaster.free.fr/bindex.html
(consulté le 02/05/08)

8- BAKHOUM I.

Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne.
Thèse de pharmacie, Dakar, 2005; N°08.

9- BALL P.

Emergent resistance to Ciprofloxacin among *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Clinical significance and therapeutic approaches.
J. Antimicrob. Chemother., 1990; 26: 165-179.

10- BASCHUNG-BERTRAND M., BEAU-TEMPS R. ET COLL.

Validation analytique.

Commentaire sur la note explicative: Rapport d'une commission SFSTP.
STP, Pharma, 1990; 6, 8; 588-591.

11- BAUEERNFEIND A., CHONG Y., SCHWEIGHART S.

Extended broad spectrum β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to Cephamycins.
Infect., 1989; 17: 316-321.

12- BENSCART LE ROY O., SEUNEVILLE E., SIVERY B., CHIDIAC C., BILLIAN V., BEAUCAIRE G. ET MOUTONY.

Utilisation de la Ceftriaxone dans les infections broncho-pulmonaires de réanimation.
Méd. et Mal. Inf., 1989; *Hors série*: 67-71.

13- BEREMBAUM M. C.

Minor synergy and antagonism may be clinically important.
J. Antimicrob. Chemother., 1987; 19: 271-280.

14- BILIDO F. AND PECHERE J. C.

Laboratory survey of Fluoroquinolone activity.
Rev. Infect. Dis., 1989, 11, *Supp.5*: S917-S924.

15- BINGIN E.

Mécanisme d'action des β -lactamines.

In mécanisme d'action des β -lactamases de la structure bactérienne à la structure moléculaire.

Nice: Laboratoire Roussel, 1986, p7-30.

16- BOCOUM M.

L'assurance de la qualité en microbiologie.

Applications dans le diagnostic bactériologique des infections respiratoires basses, aiguës à Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 2001; N°119: 20-28.

17- BOUVET A.

Endocardite infectieuse: Enquête en France 1990-1991.
Sensibilité aux antibiotiques des Streptocoques et Entérocoques.
Méd. et Mal. Inf., 1992; 22, Spécial: 987-992.

18- BOUVET A., FOURNIER J. M., AUDURIER A., BRANGER C., ORSONI A. AND GIRARD C.

Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolate in an outbreak of nosocomial Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
J. Clin. Microb., 1990; 28:1338-1341.

19- BRYAN L. E.

Two forms of antimicrobial resistance: Bacterial persistence and function resistance.
J. Antimicrob. Chemother., 1989; 23: 817-823.

20- BUSH K.

Characterization of β -lactamases.
Antimicrob. Agents Chemother., 1989; 33: 259-263.

21- BUSH L. M., CALMON J., JOHNSON C. C.

Newer Penicillins and β -lactamases inhibitors.
Infect. Dis. Clin. North Am., 1989; 3(3): 571-594.

22- CABRAL M.

Validation du contrôle microbiologique des médicaments antituberculeux.
Thèse de pharmacie, Dakar, 2005; N°42.

23- CHABBERT Y. A.

Les associations synergiques d'antibiotiques.
XIVe Congrès Intern. Scientif, Paris, 1977: 281-307.

24- CHIANG T. M., CHANG T. Y.

Escherichia coli strains and their susceptibility to antibiotics in nosocomial infection.
Chung. Hua J. Hsueh. Tsa. Chih., 1991; 47(3): 192-198.

25- CHIN N. X.

Comparative *in vitro* activity of the new Fluoroquinolone BMY-40062.
Env-j-clin-Microb-Infect.-Dis. 1990; (9) (8): 620-624.

26- CHIN N. X.

In vitro activity of win 57273 compared to the activity of others Fluoroquinolones and two β -lactam antibiotics.

J. Antimicrob. Chemother., 1991, Juin: 27(6): 781-791.

27- CHOPRA I.

Mechanism of resistance to antibiotics and other chemotherapeutic agents.

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

28- CHRISTOL D., BURE A. M.

Etat actuel de la résistance bactérienne *in vitro* aux antibiotiques.

Pathol. Infect. et paras. R.P., 1975; 25, 29.

29- CLUZEL, CHANAL M., SIROT D., SIROT J.

Activité de la Ceftriaxone *in vitro* sur des bactéries hospitalières: droite de régression et valeurs critiques.

Extr. de Pathol. Biol., 1985, 33(5 bis): 473-476.

30- COLLATZ E., GUTMANN L., WILLIMASON R., ACAR J. F.

Development of resistance to third generation Cephalosporins.

J. Antimicrob. Chemother., 1984; 14, b; 13-21.

31- COURVALIN P., PHILIPPON A.

Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens.

In: *Le Minor L., Veron M., eds. Bactériologie médicale 2^{de} édition, Paris: Flammarion, 1989: 332-355.*

32- CURTIS N. A. C., EISENSTADT R. L., TURNER K. A., WHITE A. J.

Porin mediated Cephalosporin resistance in *Escherichia coli* K-12.

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

33- DAVID B.D.

Bactericidal synergism between β -lactams and Aminoglycosides: Mechanism and possible therapeutic implications.

Rev. Infect. Dis., 1982; 2: 237-245.

34- DEFORGES L., THOI LE VAN J., SOUSSY C. J., DUVAL J.

Activité antibactérienne *in vitro* de huit Céphalosporines de troisième génération.

Extr. de Pathol. Biol., 1982; 30(6): 363-369.

35- DE LOUVOIS J.

Factors influencing the assay of antimicrobial drugs in clinical samples by the agar plate diffusion method.

J. Antimicrob. Chemother., 1982; 253-265.

36-DENIS F., CADOZ M., MBOUP S., POUSSET M., PRINCE-DAVID M.

Avec la collaboration technique de GAYE A. et SENE S.

Etude préliminaire de l'activité antibactérienne *in vitro* d'une nouvelle Céphalosporine: La Rocéphine (RO 13-9904).

Lyon Médical, 1981; 245, 12: 765-768.

37- DIENNE J. F.

Infections urinaires nosocomiales dans le service d'Urologie au C.H.U A. Le Dantec: étude de l'écologie bactérienne.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1993; N°11.

38- DIOP C.

Contrôle de qualité des antituberculeux majeurs utilisés par le Programme National de lutte contre la Tuberculose (PNT).

Thèse de pharmacie, Dakar, 2001 ; N°05.

39- DUVAL J.

Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens.

In: Le Minor I., Veron M., eds

Bactériologie médicale; 2nde édition, Paris, Flammarion, 1989; 273-96.

40- DUVAL J., SOUSSY C. J.

Abrégé de l'antibiothérapie.

4^{ème} édition Masson, Paris (1977, 1990): 75-100.

41- EDUWARD J., O'ROURKE, LAMBERT G., PARSONNET K. C., MACONE A. B. AND GOLDMANN D.

False resistance to Imipenem with a microdilution susceptibility testing system.

J. Clin. Microb., 1991; 29: 827-829.

42- EUZEBY J. P.

Résistance bactérienne aux antibiotiques.

Abrégé de bactériologie générale et médicale.

www.bactériologie.net/générale/résistanceantibiotiques.html

(consulté le 02/06/08)

43- FAUCHER J. L.

Techniques en bactériologie clinique.

Ellipses, Paris, 1997: 30-96.

44- FEINBERG M.

L'assurance qualité dans les laboratoires agro-alimentaires et pharmaceutiques.

Editions TEC et DOC, Paris, 1998: 309.

45- FEINBERG M.

Organiser rationnellement les essais, une nécessité pour optimiser la préparation des échantillons.

Analysis, 1988, 20: 23-25.

46- FONTANA R.

Penicillin binding proteins and intrinsic resistance to β -lactam in Gram positive cocci.

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

47- FRAIMOW S. H., AND VENUTI E.

Inconsistent bactericidal activity of triple combination therapy with Vancomycin, Ampicillin and Gentamycin, against Vancomycin-Resistant Highly Ampicillin-Resistant *Enterococcus faecium*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1992, 36: 1563-1566.

48- FUNG-TOMC J., HUCZKO E., KOLEK B., THATER C., KESSIER R.E.

In vitro activities of Cefepim alone and with Amikacin against aminoglycoside-resistant Gram negative bacteria.

Antimicrob. Agents Chemother., 1991; 35(12): 2652-2654.

49- GASSAMA N. R.

Activité antibactérienne *in vitro* de quatre Céphalosporines (Céfalotine, Céfazoline, Céfotaxime, Ceftriaxone) sur 100 souches de bacilles à Gram négatif isolées au C.H.U de Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1984; N°97.

50- GAZENGEL J. M., ORECCHIONI A. M.

Guide du préparateur en pharmacie.

Editions TEC et DOC, Paris, 1999: 256-271.

51- GEYID A., LEMENEH Y.

The incidence of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain in clinical specimens in relation to their β -lactamase producing and multiple-drug resistance properties in Addis Abeba.

Ethiop. Med. J., 1991; 29(4): 149-161.

52- GODFREY A. J., HATLELID L. H., BRYAN L. E.

Correlation between lipopolysaccharide structure and permeability resistance in β -lactam resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1984; 26: 18-186.

53- GOLDSTEIN F., BERARDI L., KITZIS M. D., DRUGEON H. ET THABAUT A.

Ceftriaxone et associations d'antibiotiques.

Méd. et Mal. Inf., 1989; *Hors série*: 50-56.

54- GUEYE C.

Contribution au contrôle de qualité des médicaments génériques dans les centres de santé de Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1996 ; N°71.

55- GUEYE SEYE G. N. K.

Etude *in vitro* de l'activité d'associations d'antibiotiques sur des souches bactériennes multirésistantes isolées dans les C.H.U de Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1993; N°82.

56- GUTMANN L., WILLIAMSON R., MOREAU N. ET AL.

Cross resistance to Nalidixic Acid, Trimethoprim and Chloramphenicol associated with alteration in outer membran proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia*.

J. infect. Dis., 1985; 151: 501-507.

57- GUTMANN L., GOLDSTEIN F.

Staphylocoques et β -lactamines.

In Courvalin P., Goldstein F., Philippon A. et AL eds
L'antibiogramme, Paris; *mpc-vidéon*, 1985: 23-28.

58- HALLER I.

Comprehensive evaluation of Ciprofloxacin in combination with β -lactam antibiotic against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Arzneimittel forschung 1986; 36(2): 226-229.

59- HARTMAN B. J., TOMASE A.

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

Antimicrob. Agents Chemother., 1986; 29: 85-92.

60- HAVES M.V., WARD J.B.

The role of Penicillin binding proteins in anti-bacterial activity of β -lactam antibiotics.

In "antibiotics in laboratory medicine" ed.

61- INTERSCIENCE CONGRES AMERICAN ANTIBIOTHERAPY AND CHEMOTHERAPY

β -lactamases. *La lettre de l'Infect.*, 1998; tome XIII, N°1: 462-470.

62- ISO 9000.

Normes pour la gestion de la qualité et l'assurance de la qualité en conception, développement, production, installation et soutien après vente.

Genève, 1988.

63- JACOBY G. A. ET AL.

Properties of plasmid responsible for extended spectrum β -lactamase production.

Antimicrob. Agents Chemother., 1991; 35: 164-169.

64- JAFFE A., CHABBERT Y. A., SEMONIN O.

Role of porin proteins Omp F and Omp C in the perme action of β -lactam.

Antimicrob. Agents Chemother., 1982; 22: 942-948.

65- JARLIER V., BISMUTH R., GROSSET J.

Cefotaxime, Moxalactam et Ceftriaxone: Comparaison de l'activité *in vitro* sur des souches hospitalières d'Entérobactéries appartenant aux quatre principaux phénotypes de sensibilité aux β -lactamases.

Extr.de Pathol. Biol., 1983; 31(5): 336-342.

66- JOFFIN J. N., LEYRAL G.

Antibiogramme : Méthodes des disques.

In *Microbiologie technique, Tome I, Dictionnaire des techniques*, Bordeaux : Centre Régional de documentation pédagogique, 1991; 14-25.

67- KA R.

Résistances bactériennes au C.H.U de Fann. Etat des lieux, perspectives.

Thèse de pharmacie, Dakar, 2001; N°8.

68- KABAMBA J. T.

Etude de la résistance aux antibiotiques des germes isolés au laboratoire de Bactériologie du C.H.U de Dakar de 1980 à 1982.

C.E.S de Mal. Inf. et Trop., Faculté de Médecine, 1984, Dakar.

69- KASSE C.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de Streptocoques isolées au C.H.U de Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1992; N°94.

70- KECHRID A., BEN REDDEB S., GERGOURI J., BENHASSEN E., BOUJNAH A.

Les Streptocoques du groupe D et les Entérocoques: Identification, sensibilité aux antibiotiques et étude de la résistance haut niveau aux Aminosides.

Méd. Trop., 1991, 51., 2.,:177-180.

71- KETTNER M., KREMERY V.

Development of Gentamycin resistance in Gram negative bacteria in Czechoslovakia and correlation with its usage.

Drugs Exp. Clin. Res., 1988; 14(8): 511-517.

72- LABIA R.

Bêta-lactamases inductibles constitutives.

Med. et Mal. Inf., 1988 ; Hors série: 11-34.

73- LANET J.

Le médicament: Ethique et réalité industrielle.

La qualité pharmaceutique.

Edition de santé, Paris, 1991, N°3: 215.

74- LE MINOR L., VERON N.

Bactériologie médicale, 2^{nde} édition.

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

75- LEHIR E., BILLET A., CARDENNE M., EUZENA A., FAUSSATA I.

Guide pour l'élaboration du manuel qualité d'une entreprise de fabrication de médicaments : rapports d'une commission SF.

STP Pharma Pratiques, ISSN 1997, vol. N°5: 1157-1497.

76- LINDBERG F., NORMARKS S.

Contribution of chromosomal β -lactamase to β -lactam resistance in Enterobacteria.

Rev. Infect. Dis., 1986; 8 Supp. 3: 292-304.

77- MACHKA K., HETZ R.

Comparative Synergistic Activity of Ceftriaxone, Piperacillin versus Ceftriaxone, Netilmicin.
Eur. J. Clin Microbiol., 1983; 496-500.

78- MACTAR C.

Prévalence de la sécrétion des β -lactamases à spectre étendu à partir de 607 souches de *Klebsiella pneumoniae* provenant de 5 pays Africains.
Thèse de pharmacie, Dakar, 2000; N°27.

79- MALUOIN F., BRYAN L. E.

Modification of Penicillin binding proteins as mechanisms of β -lactam resistance.
Antimicrob. Agents Chemother., 1986; 30: 1-5.

80- MEFANE C.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des urines à Libreville.
Afr. Méd., 1985, 24, 226: 13-22.

81- NANAS R., GUTMANN L., KITZIS M., GOLDSTEIN F., ACAR J. F.

Etude comparative de l'activité de la Ceftriaxone avec le Cefotaxime et le Moxalactam sur 150 bactéries à Gram négatif.
Extr. de Pathol. Biol., 1982, 30(6): 341-344.

82- NAUCIEL C.

Anatomie fonctionnelle bactérienne.
Bactériologie médicale.
Ed. Masson, Paris, 2000, ISBN: 2-294-00428-0616.014 NAV, p14-26.

83- NDAW D. A. A.

Activité bactéricide *in vitro* de différentes molécules d'antibiotiques sur des souches bactériennes d'origine hospitalière.
Thèse de pharmacie, Dakar, 1998 ; N°38.

84- NDIAYE M. L.

Validation de méthodes de contrôle microbiologique de différents médicaments antibiotiques.
Thèse de pharmacie, Dakar, 2003; N°54.

85- NEU H. C.

Définitions et classifications des β -lactamases.
Méd. et Mal. Infect., 1988; *Hors série*: 7-10.

86- NEU C. H., MEROPOL N. J., FU K. P.

Antibacterial activity of Ceftriaxone (RO 13-9904) a β -lactamase.
Antimicrob. Agents and Chemother., 1981, 414-423.

87- NIKAIDO M., VAARA M.

Molecular basis of bacterial outer membrane permeability.
Microbiol. Rev., 1985; 49: 1-3.

88- PAYNE D. J., AMYES S. G. B.

Transferable resistance to extended-spectrum β -lactams: A major treat or minor inconvenience?
Antimicrob. Agents Chemother., 1991; 27: 253-261.

89- PHILIPPON A., PAUL G., NEVOT P.

Bêta-lactamases: Incidences et intérêts cliniques.
Réan. Soins Intens. Méd. Urg., 1987; 3: 229-233.

90- PHILIPPON A., PAUL G., NEVOT P.

Résistance plasmidique aux Céphalosporines de troisième génération.
Press. Méd., 1988; 17: 1883-1889.

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

Introduction of the SOS response in *Escherichia coli* by 4-Quinolones.
J. Antimicrob. Chemother., 1987; 20: 631-638.

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

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

93- PIERRE H. ET COLL.

Sensibilité et résistance aux antibiotiques des Staphylocoques à coagulase négative.
Méd. et Mal. Infect., 1990; *Hors série*: 29-40.

94- RAPHENON G.

Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.
Forum médical 1996; 2: 6-11.

95- « 100 RECOMMANDATIONS POUR LA SURVEILLANCE ET LA PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES. »

Annexe 6 : Le bon usage des antibiotiques à l'hôpital.

Recommandations pour maîtriser le développement de la résistance bactérienne.

Agence Nationale pour le développement de l'évaluation médicale.

Service des études (Août 1996).

www.sante-gouv.fr/htm/pointsur/nosoco/guide/ann6.html

(consulté le 16/04/08)

96- REDJEB B. S., ENNAIFER M., BISSARDON O., BEN SALAH N., BOUJNAH A.

Sensibilité des germes Gram négatif à l'Amikacine.

La Tunisie Med., 1972, 57, (2-3): 103-106.

97- RICHET H., HAUTEFORT B., LAGRANGE P. H.

Bactériologie et écologie des infections à Staphylocoques.

Rev. prat., 1982; 32: 49-50.

98- SANDERS C., SANDERS Jr W. E.

Emergence of resistance during therapy with the newer β -lactam antibiotics: Role of inducible β -lactamases and implications for the future.

Rev. Infect. Dis., 1983; 5: 639-648.

99- SANDERS C., SANDERS Jr W. E., GUERING R. V., WERNER V.

Selection of multiple antibiotic resistance by Quinolones, β -lactams and Aminoglycosides with special reference to cross resistance between unrelated drug classes.

J. Antimicrob. Chemother., 1984; 26: 797-801.

100- SICARD D., SENNHAUSER C., LAFFONT C., POCHET I.

Etude de l'activité bactériostatique et bactéricide de la Ceftriaxone sur 200 bactéries isolées en milieu hospitalier.

Laboratoire de Microbiologie, Hôpital de Cimez-Nice-France et Paris : Laboratoire Roche; Service médical, 1983.

101- SIROT J.

« Résistance enzymatique des bacilles Gram négatif aux Céphalosporines de troisième génération ».

In Méd. Mal. Infect., 1989; Hors série, Octobre 24.

102- SOUGAKOFF W., TRYSTAM D.

Résistances aux β -lactamines.

Service de Bactériologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière.

Mise à jour : 18/02/03

www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resislacta/index.html

(consulté le 26/05/08)

103- SOUGAKOFF W. et AL.

The TEM-3 β -lactamase; with hydrolizes broad spectrum Cephalosporins, is decrived from the TEM-2 penicillinase by two aminoacid substitutions.

104- SOUMARE Y.R.

Profil antibiotique des bactéries isolées au laboratoire de Bactériologie-Virologie du C.H.U de Fann (Etude sur deux ans: 1987-1988).

Thèse de pharmacie, Dakar, 1989; N°74.

105- SOUSA DE C., GABEASSOR M., KOUMAFLE K.

Sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolées à Lomé.

Med. Microb., 1988; 48(3): 243-247.

106- SOUSSY C. J., DEFORMGES L., THOI J. L. E. V., CHANAL M., SIROT D., ACAR J. F., KITZIS M. D., THABAUT A., MEYRAN M., DABERNA H., BERGOGNE E.-BEREZIN, GUILLOU M. L. J.

Activité *in vitro* de la Ceftriaxone sur les bactéries hospitalières: Résultats d'une étude multicentrique.

Extr. de Pathol. Biol. 1985; 33(5bis): 469-472.

107- SOUSSY C. J., SIROT J., CHANAL M., LE VAN THOI J., SIROT D., DUVAL J., CLUZEL R.

Activité antibactérienne *in vitro* des nouvelles β -lactamines: Uréidopénicillines, Céphalosporines de troisième génération, Monobactames, Imipenem.

Med.et Mal. Inf., 1986; 11bis, 666-673.

108- SPRATT B. G.

Penicillin binding proteins and future of β -lactam antibiotics.

J. Gen. Microbiol., 1983, 129: 1274-126.

In Méd. Mal. Infect., Hors série, Octobre 1989; 24-30.

109- SYLVA J. T. A.

Etude *in vitro* de l'activité d'associations d'antibiotiques sur des souches bactériennes multirésistantes isolées dans le C.H.U Aristide Le Dantec.

Thèse de pharmacie, Dakar, 2001; N°81.

110- TALLY F. P., LONIE T. J., WEINSTEIN M. D., BARTLETT J. G., SHERWOOD L.

Amikacin therapy for severe Gram negative sepsis.
Emphasis on infections with Gentamycin-resistant organisms.
Ann. Int. Med., 1975; 83(4): 484-488.

111- THABAUT A., MEYRAN M.

Nouvelles β -lactamines: Essai de classification, relation structure-activité.
Ext. de Pathol. Biol., 1985; 33(5bis): 469-472.

112- TOURE A.

Etude prospective des souches de Staphylocoques à coagulase négative isolées au C.H.U de Dakar: Sensibilité aux antibiotiques-phénotype de résistance aux β -lactamines.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1992; N°93.

113- TOURE N. C. H.

Etude de marqueurs épidémiologiques des souches de Klebsielles à l'origine de septicémies et de méningites dans deux services de Néonatalogie du C.H.U de Dakar.

Thèse de pharmacie, Dakar, 1989; N°16.

114- VERBIST L., VERHAEGEN J.

In vitro activity of Ciprofloxacin: An overview.

In. Clin. Pract. 1990.,(12): 5-12.

115- WASHINGTON J. A., JONES R. N., ALLEN S. D., GERLACH E. H., KOONTZ F., MURAY P. R., PFALLER M. A., ERWIN M. E.

In vitro comparaison of GR69153, a novel catechol-substituted Cephalosporin with Ceftazidime and Ceftriaxone against 5203 recent clinical isolates.

Antimicrob. Agents Chemother., 1991; 25(7): 1508-1511.

116- WILLIAMSON R., COLLATZ E., GUTMANN L.

Mécanismes d'action des β -lactamases et mécanismes de résistance non enzymatiques.

La Presse Médicale, 1986; 15, N°46: 2282-2289.

117- WITCHITZ J. L., CHABBERT Y. A.

Résistance transférable à la Gentamicine.

Ann. Inst. Pasteur, 1972; 122: 367-378.

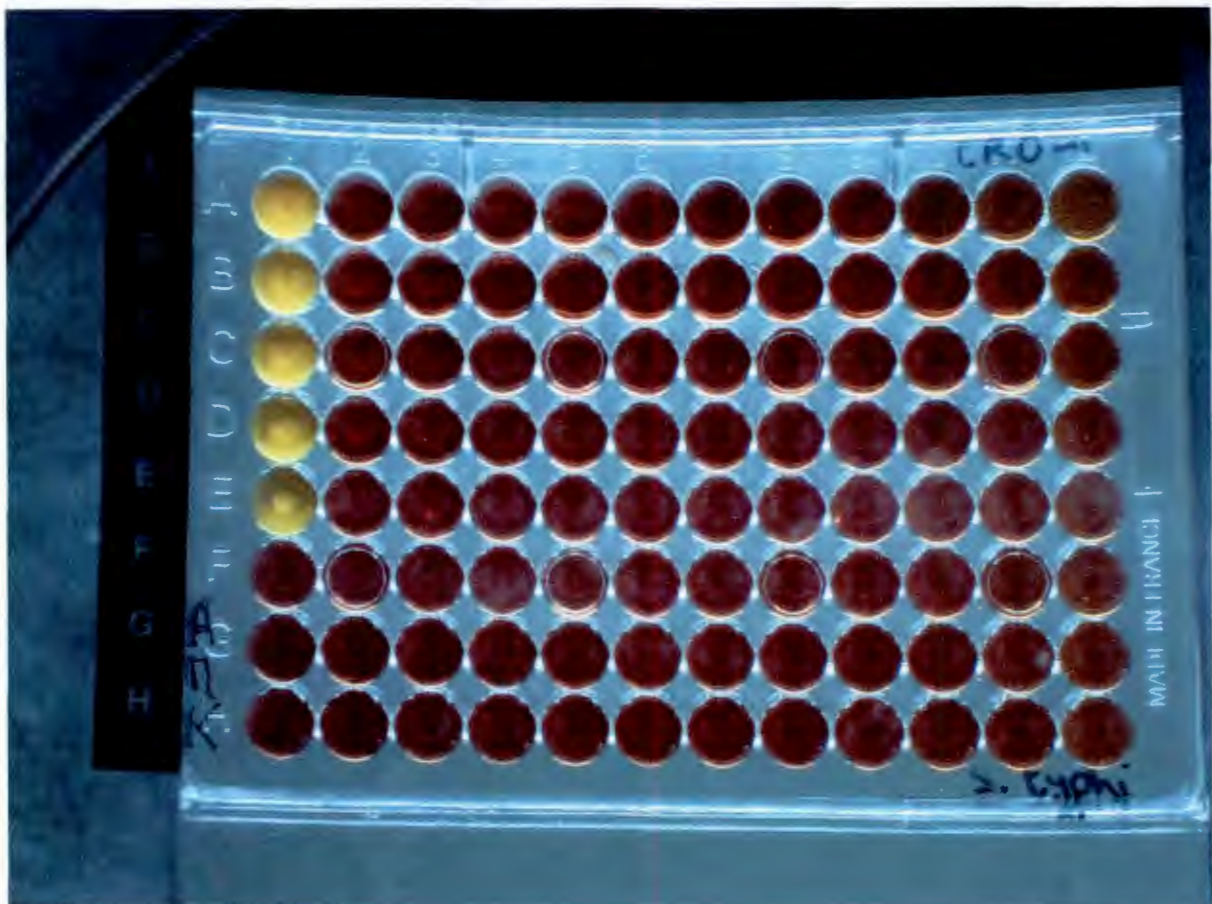
118- WOLFSON J. S. AND HOOPERD C.
Bacterial resistance to Quinolones: Mechanisms and Clinical Importance.
Rev. Infect. Dis., 1989; 11, Supp. 5: S960-S968.

119- WURMA R. U., KAYSER F. H., BARBERIS M. L.
Antibacterial properties of Imipenem with special reference to the activity
against Methicillin-resistant *Staphylococci*, Cefotaxime-resistant
Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.
J. Antimicrob. Chemother., 1986; 18, Supp. E: 27-33.

ANNEXES

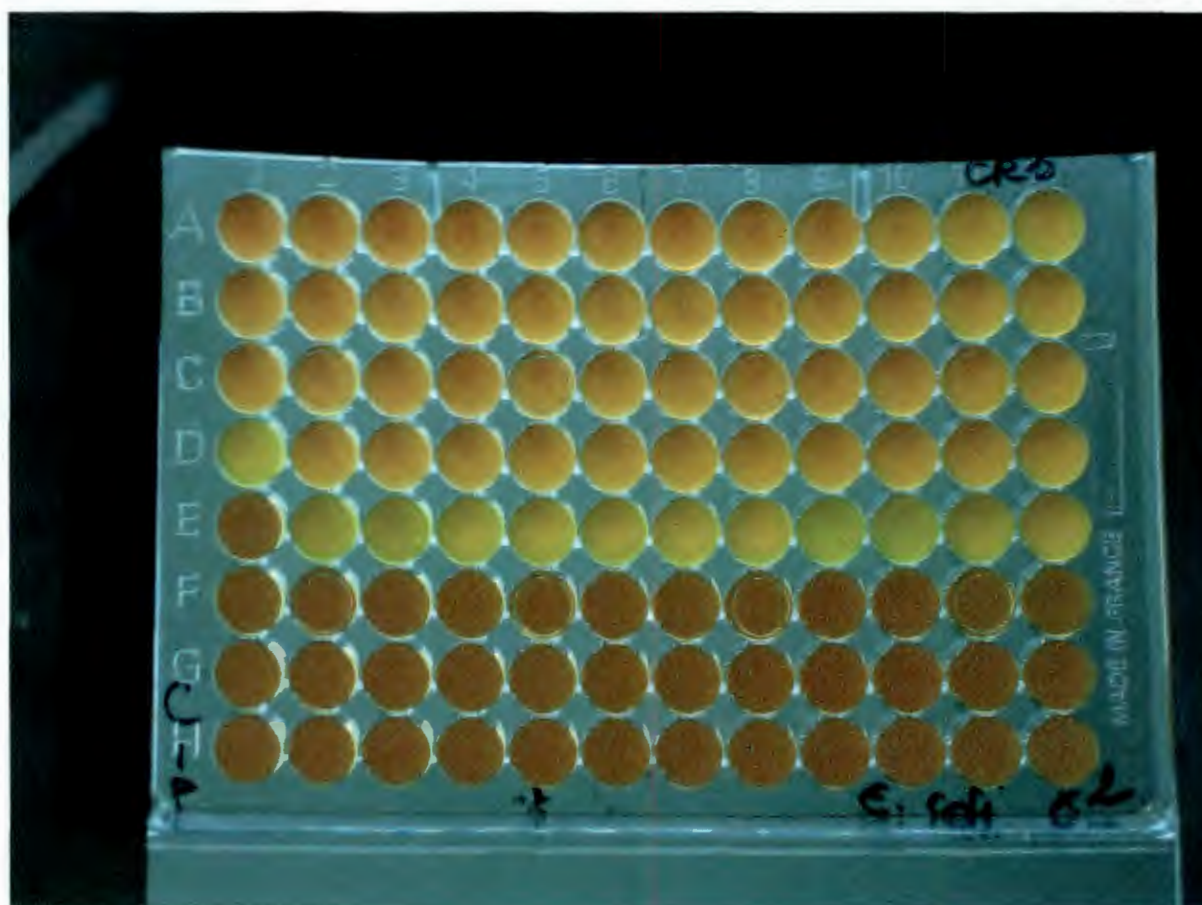
*EXEMPLES D'ASSOCIATIONS
A EFFETS SYNERGIQUES*

**ACTION SYNERGIQUE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAZONE-AMIKACINE SUR UNE SOUCHE DE
*SALMONELLA TYPHI***



(Le 18/02/08)

**ACTION SYNERGIQUE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAXONE-CIPROFLOXACINE SUR UNE
SOUCHE *D'ESCHERICHIA COLI***



(Le 30/01/08)

CRO : Ceftriaxone
GM : Gentamicine

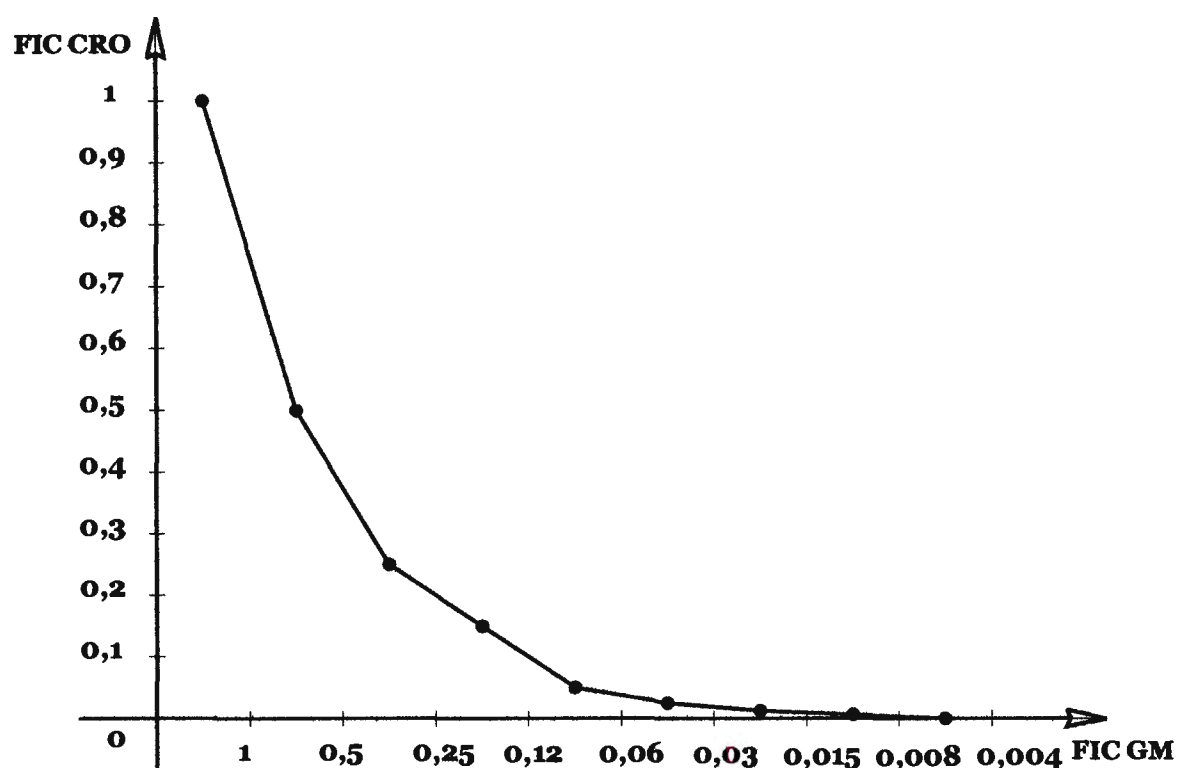


Figure 2 : Courbe de synergie de l'association Ceftriaxone/Gentamicine vis-à-vis d'une souche de *Salmonella typhi*

CRO : Ceftriaxone

AMK : Amikacine

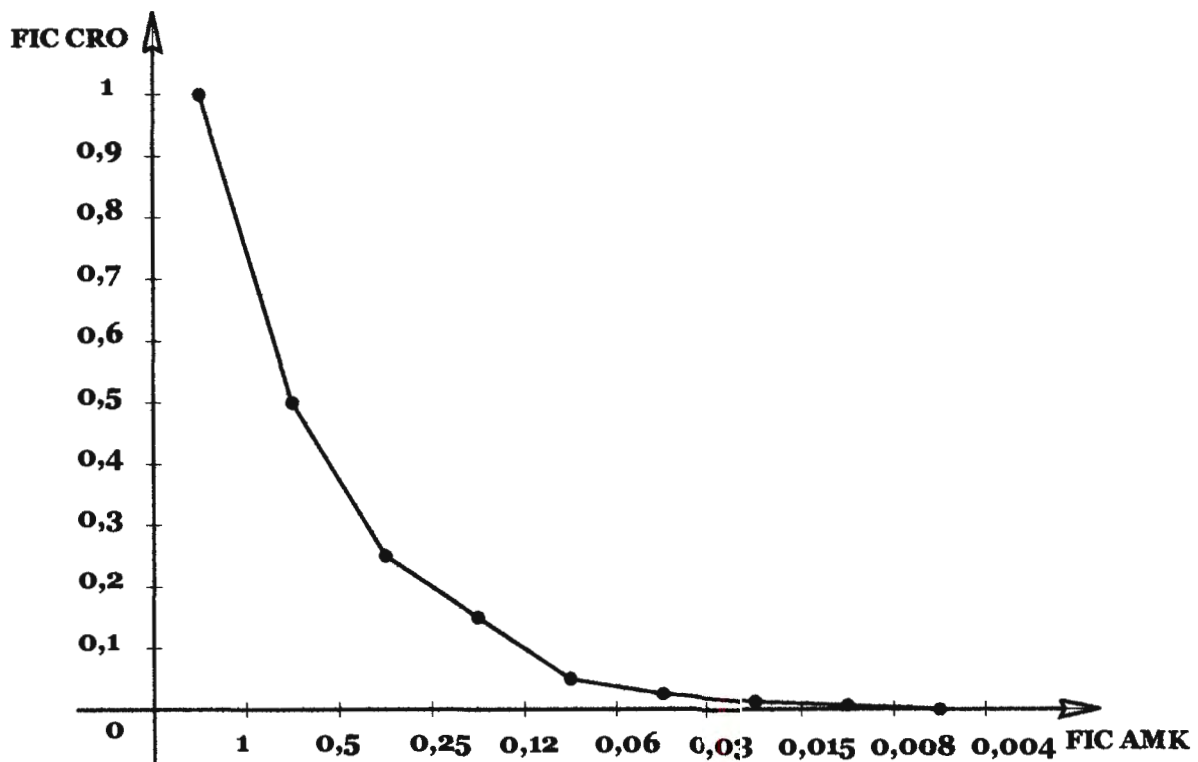
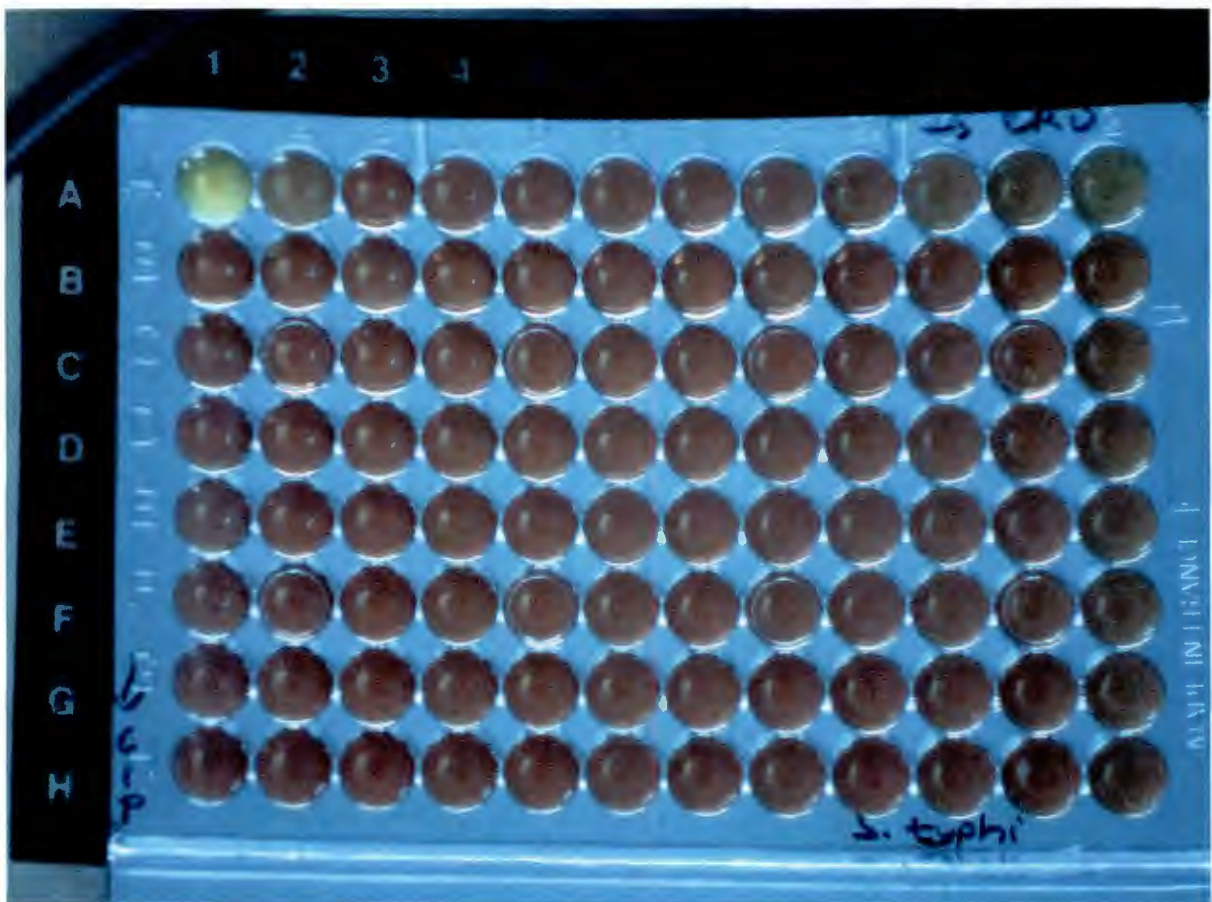


Figure 3 : Courbe de synergie de l'association Ceftriaxone/Amikacine vis-à-vis d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa*

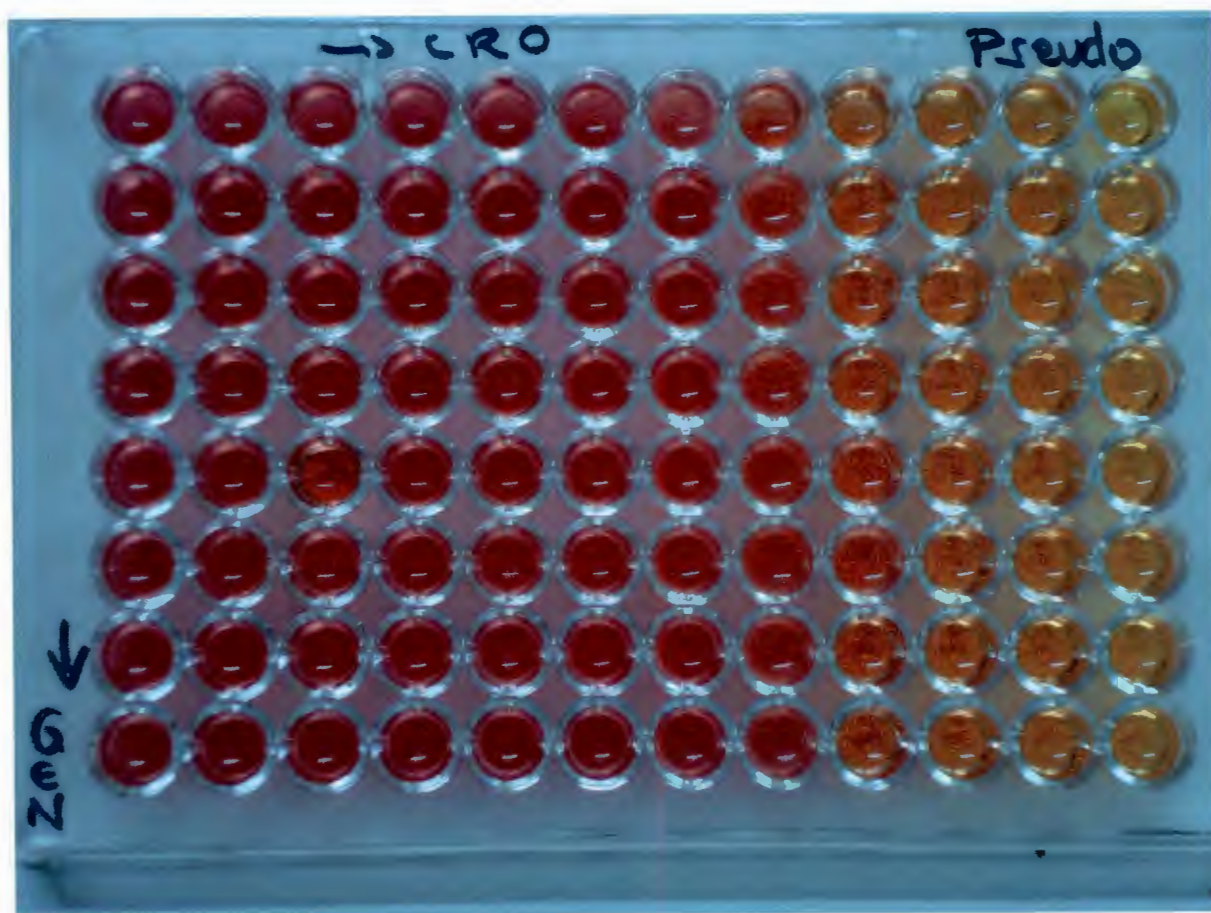
*EXEMPLES D'ASSOCIATIONS
A EFFETS ADDITIFS*

**ACTION ADDITIVE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAXONE-CIPROFLOXACINE SUR UNE
SOUCHE *DE SALMONELLA TYPHI***



(Le 05/02/08)

**ACTION ADDITIVE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAXONE-GENTAMICINE SUR UNE SOUCHE
DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***



(Le 01/03/08)

AMP : Ampicilline

GM : Gentamicine

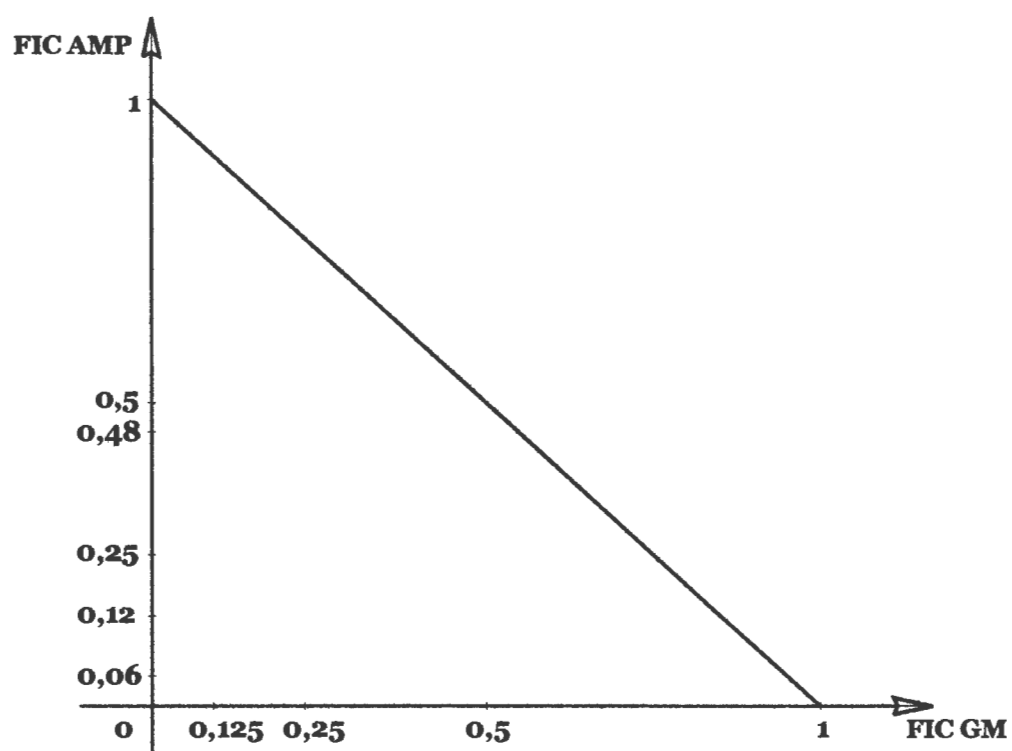
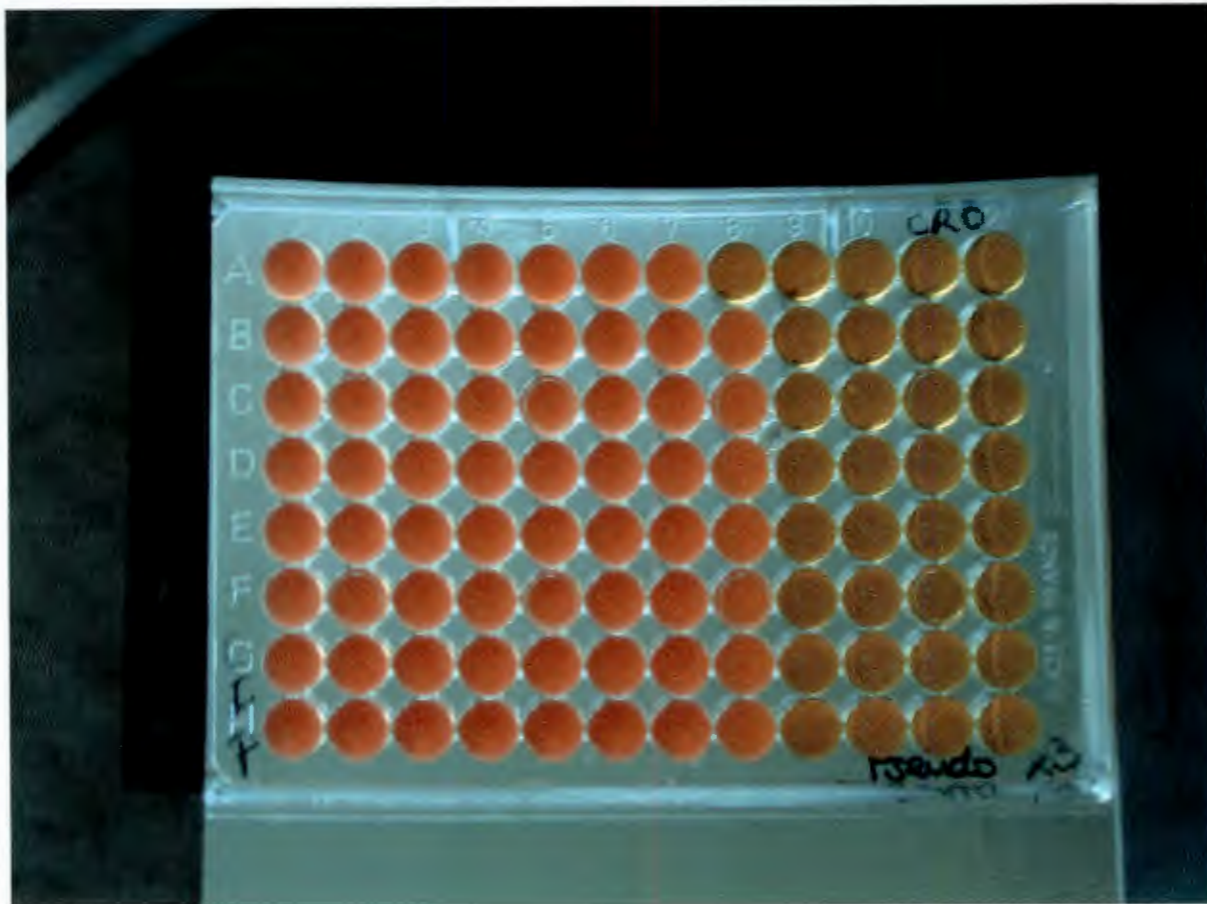


Figure 4 : Courbe d'addition de l'association Ampicilline/Gentamicine vis-à-vis d'une souche de *Staphylococcus aureus*

*EXEMPLE D'ASSOCIATION
A EFFET INDIFFERENT*

**ACTION INDIFFERENTE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAXONE-CIPROFLOXACINE
SUR UNE SOUCHE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***



(Le 22/02/08)

*EXEMPLES D'ASSOCIATIONS
A EFFETS ANTAGONISTES*

**ACTION ANTAGONISTE DE L'ASSOCIATION
CEFTRIAXONE-CIPROFLOXACINE SUR UNE
SOUCHE *D'ENTEROCOCCUS FAECALIS***



(Le 03/03/08)

CRO : Ceftriaxone
CIP : Ciprofloxacine

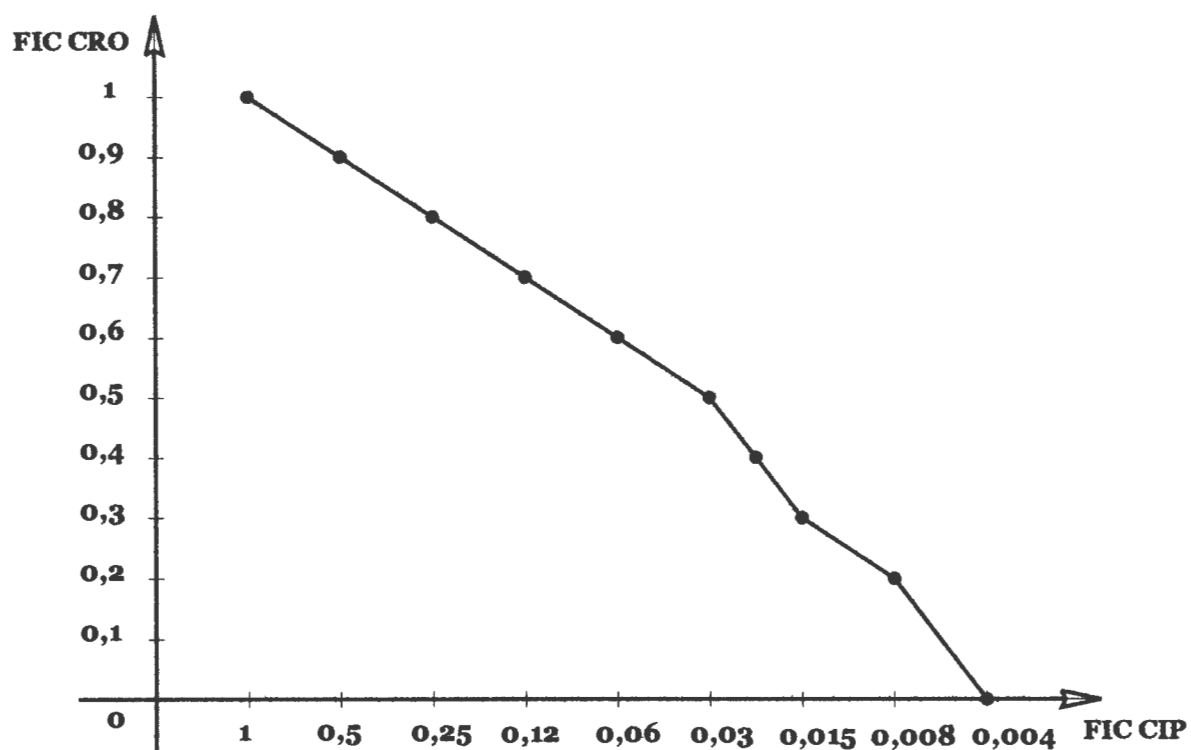


Figure 5: Courbe d'antagonisme de l'association Ceftriaxone/Ciprofloxacine vis-à-vis d'une souche d'*Enterococcus faecalis*

CRO : Ceftriaxone

AMK : Amikacine

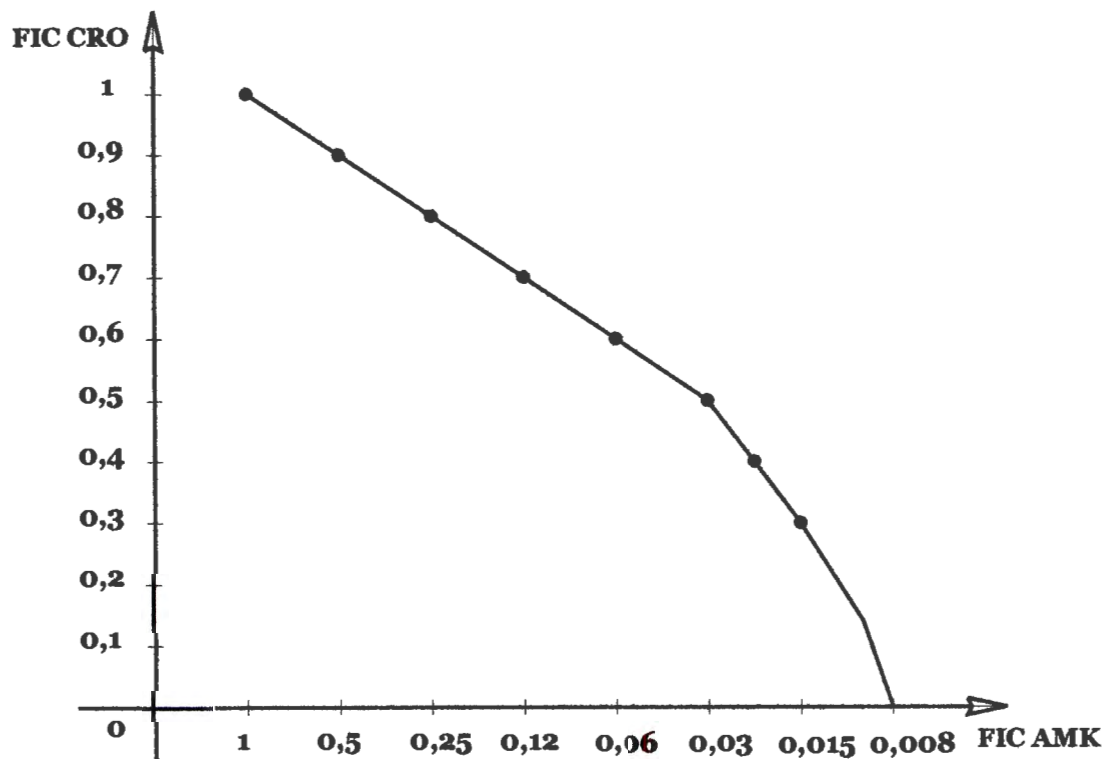
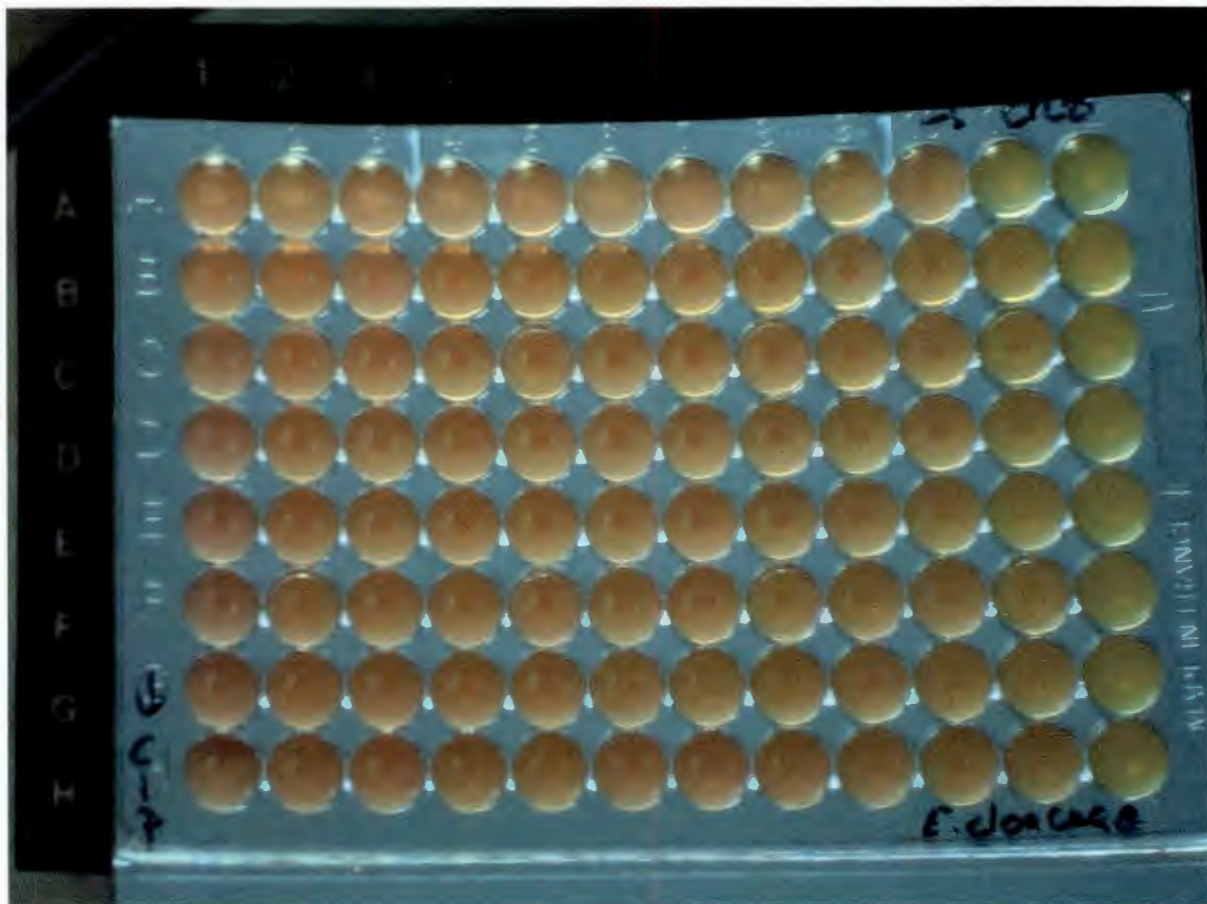


Figure 6: Courbe d'antagonisme de l'association Ceftriaxone/Amikacine vis-à-vis d'une souche d'*Enterobacter cloacae*

*ILLUSTRATION DE SOUCHES
PARTICULIERES*

ILLUSTRATION D'UNE SOUCHE D'*ENTEROBACTER CLOACAE* RESISTANTE A LA CEFTRIAXONE, A LA CIPROFLOXACINE ET A LEUR ASSOCIATION



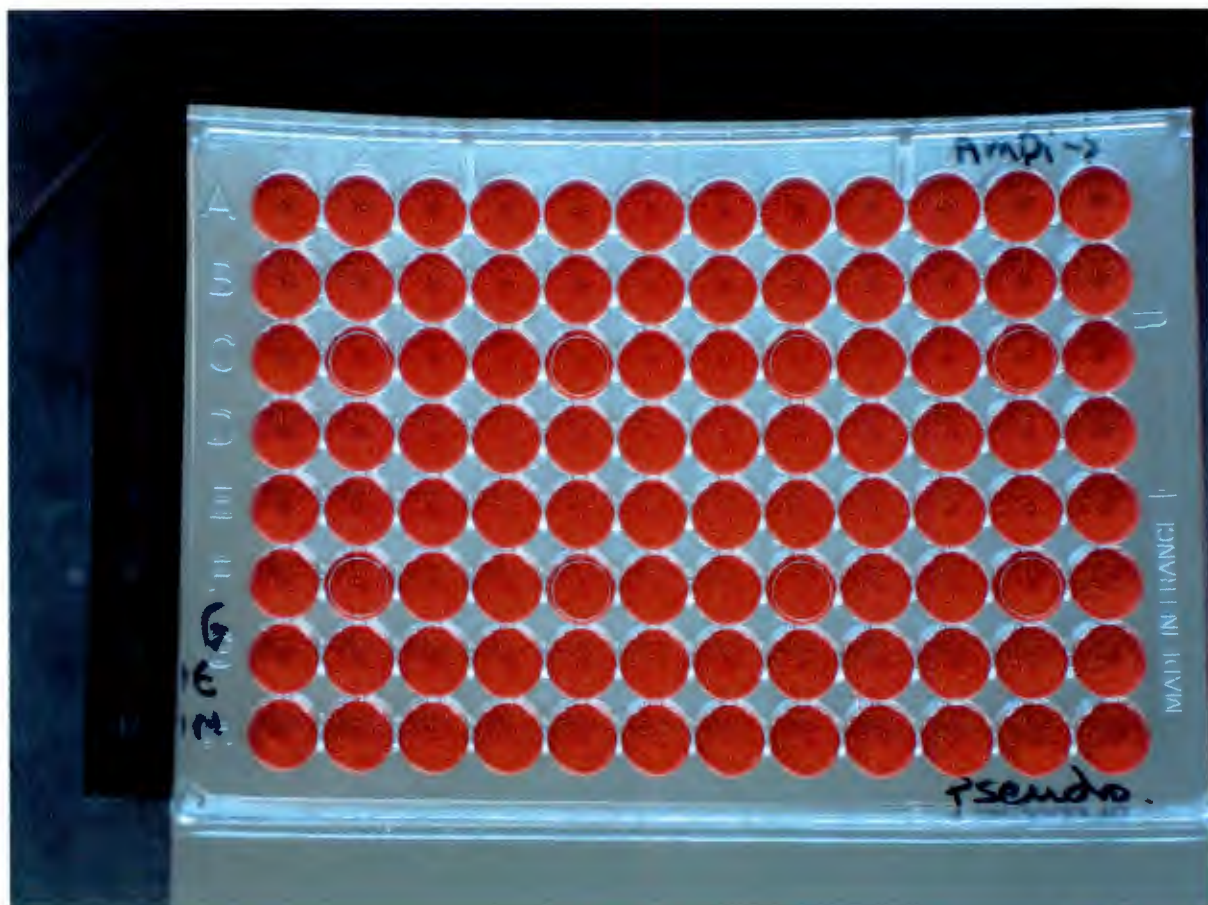
(Le 29/02/08)

ILLUSTRATION D'UNE SOUCHE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTANTE A LA CEFTRIAXONE, A LA GENTAMICINE ET A LEUR ASSOCIATION



(Le 17/03/08)

ILLUSTRATION D'UNE SOUCHE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, RESISTANTE A L'AMPICILLINE, A LA GENTAMICINE ET A LEUR ASSOCIATION

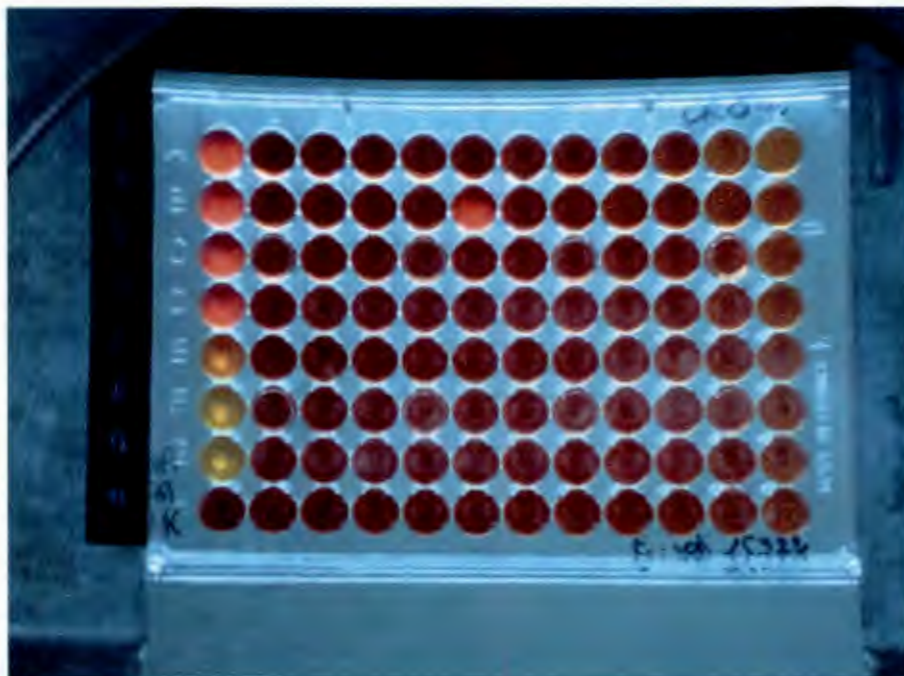


(Le 26/02/08)

Cette résistance se manifeste par une assimilation du glucose contenu dans le milieu et une libération de pigment (Pyorubrine) qui est rouge.

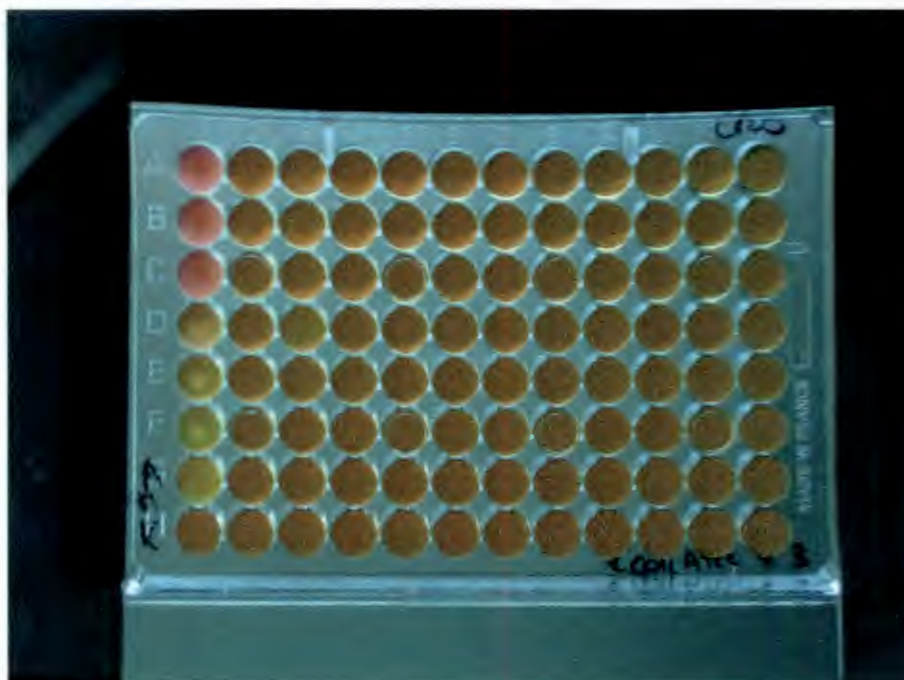
*ILLUSTRATION DE QUELQUES
TESTS DE REPETABILITE*

REPETABILITE DE L'ASSOCIATION CEFTRIAXONE-AMIKACINE SUR *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922



(Le 12/02/08)

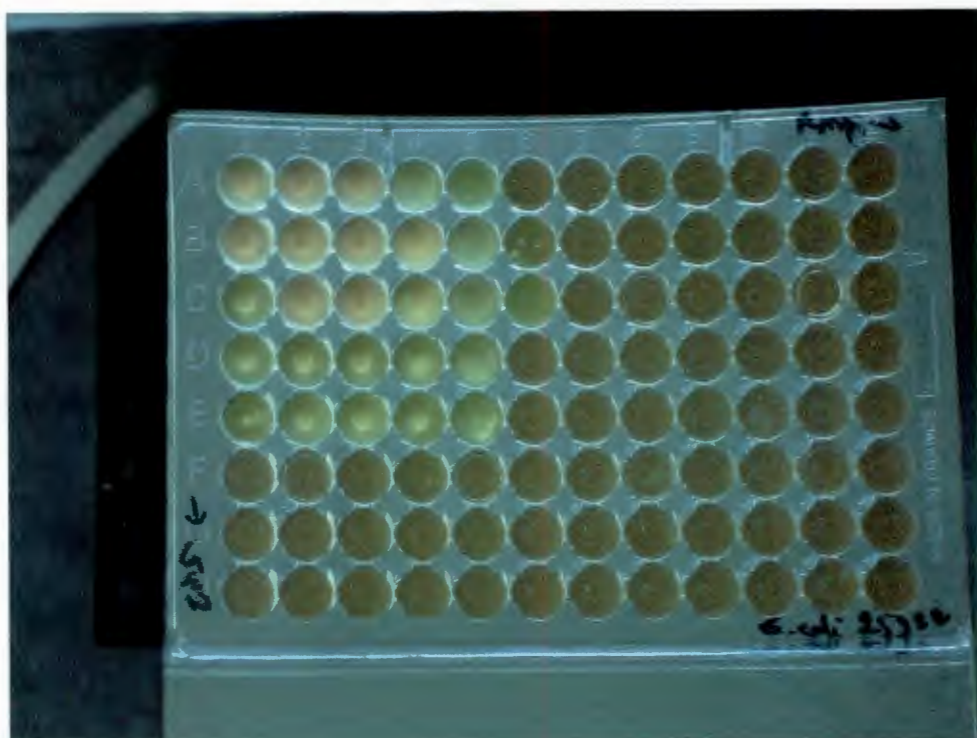
Essai 1



(Le 15/02/08)

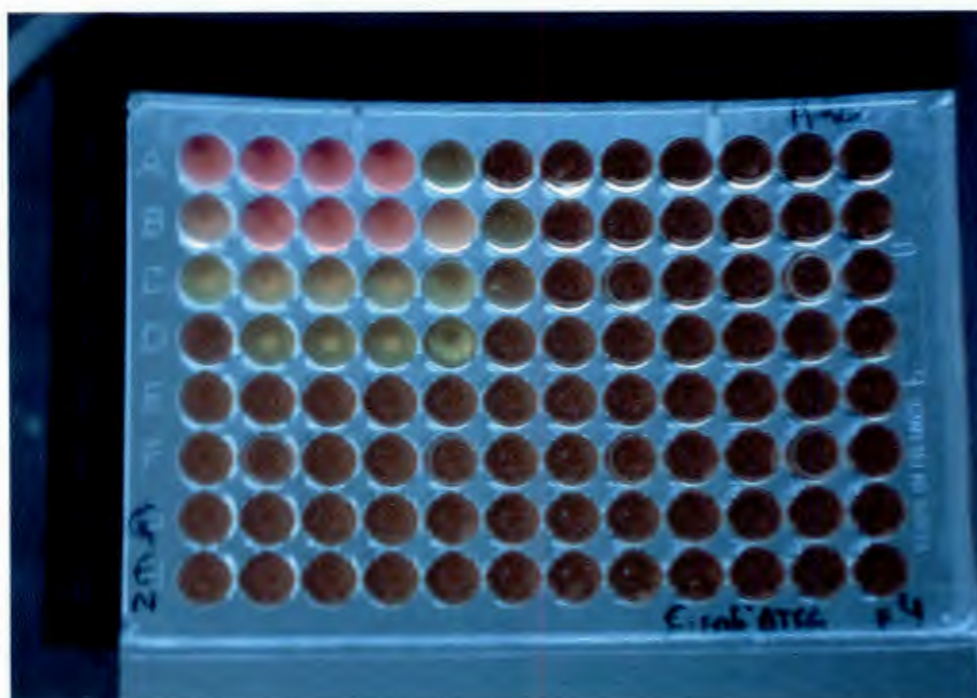
Essai 2

REPETABILITE DE L'ASSOCIATION AMPICILLINE-GENTAMICINE SUR *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922



(Le 20/02/08)

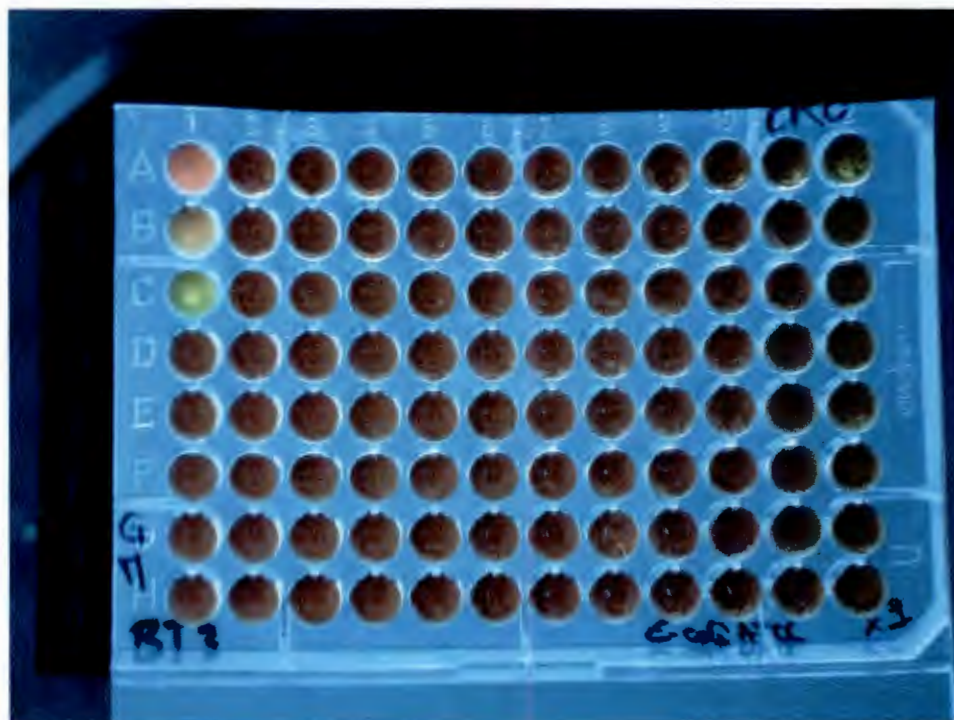
Essai 1



(Le 25/02/08)

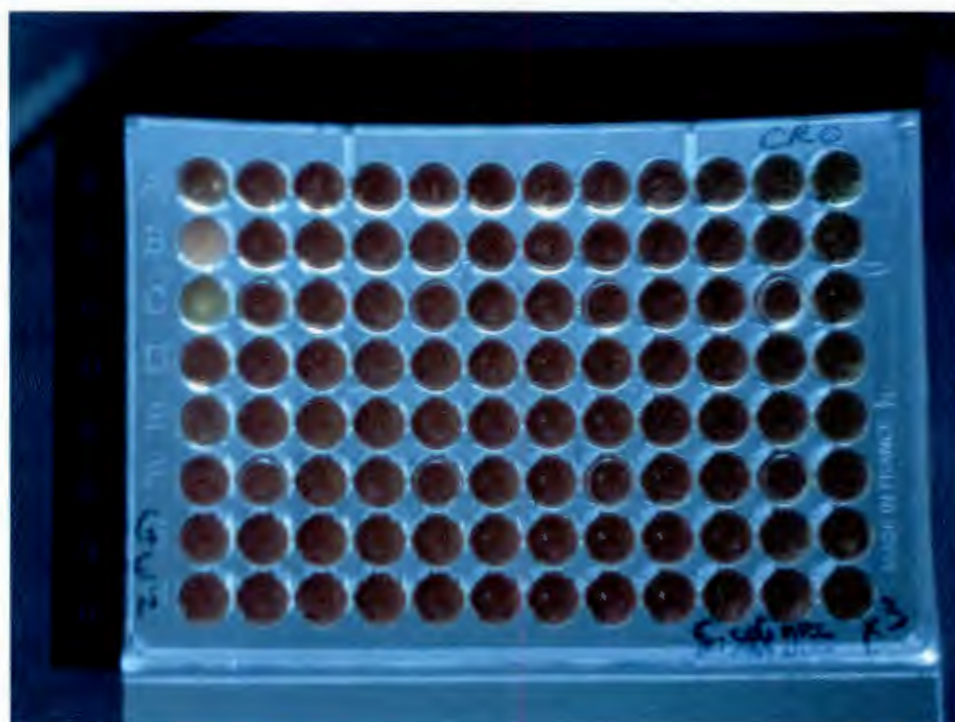
Essai 2

**REPETABILITE DE L'ASSOCIATION CEFTRIAXONE-
GENTAMICINE SUR *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922**



(Le 10/03/08)

Essai 1



(Le 14/03/08)

Essai 2