



**CLASSIFICATION DES BETA-LACTAMASES
DES SOUCHES BACTERIENNES
MULTIRESISTANTES
PAR LE PROFIL DES SUBSTRATS**

THESE

pour obtenir le Grade de **DOCTEUR EN PHARMACIE**
(DIPLOME D'ETAT)

présentée et soutenue publiquement le 25 Juillet 1994

Par

AGNES DIOUF

née le 29 Mai 1964 à FATICK (Sénégal)

MEMBRES DU JURY :

Président	: M. Doudou BA,	Professeur
Membres	: M. Souleymane MBOUP,	Professeur
	: M. Moussa Fala CISSE,	Professeur
	: M. Mamadou BADIANE,	Maître de Conférences agrégé

Directeur de Thèse	: M. Souleymane MBOUP,	Professeur
Co-Directeur	: M. Cheikh Saad - Bouh BOYE,	Maître assistant



BFMPOS

**CLASSIFICATION DES BETA-LACTAMASES
DES SOUCHES BACTERIENNES
MULTIRESISTANTES
PAR LE PROFIL DES SUBSTRATS**

THESE

pour obtenir le Grade de **DOCTEUR EN PHARMACIE**
(DIPLOME D'ETAT)

présentée et soutenue publiquement le 25 Juillet 1994

Par

AGNES DIOUF

née le 29 Mai 1964 à FATICK (Sénégal)

MEMBRES DU JURY :

Président	: M. Doudou BA,	Professeur
Membres	: M. Souleymane MBOUP,	Professeur
	: M. Moussa Fafa CISSE,	Professeur
	: M. Mamadou BADIANE,	Maître de Conférences agrégé

Directeur de Thèse : M. Souleymane MBOUP, Professeur

Co-Directeur : M. Cheikh Saad - Bouh BOYE, Maître assistant

FACULTE DE MEDECINE & DE PHARMACIE

PERSONNEL DE LA FACULTE

DOYEN :

M. René NDOYE

PREMIER ASSESSEUR :

M. Doudou BA

DEUXIEME ASSESSEUR :

M. Ibrahima Pierre NDIAYE

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS :

M. Assane CISSE

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

=====

(établie le 01/06/1994)

PROFESSEURS TITULAIRES

M. Doudou	BA	Chimie Analytique
M. Ibrahima	BA	Pédodontie-Prévention
M. Salif	BADIANE	Maladies Infectieuses
M. Oumar	BAO	Thérapeutique
M. Fallou	CISSE	Physiologie
M. Fadel	DIADHIU	Gynécologie-Obstétrique
M. Lamine	DIAKHATE	Hématologie
M. Samba	DIALLO	Parasitologie
M. Adrien	DIOP	Chirurgie Générale
M. El Hadj Malick	DIOP	O.R.L.
Mme Thérèse MOREIRA	DIOP	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Sémou	DIOUF	Cardiologie
M. Mohamadou	FALL	Pédiatrie
M. Mamadou	GUEYE	Neuro-Chirurgie
M. Nicolas	KUAKUVI	Pédiatre
M. Pierre	LAMOUCHE	Radiologie
M. Issa	LO	Pharmacie Galénique
M. Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie
M. Aristide	MENSAH	Urologie
M. Bassirou	NDIAYE	Dermatologie
M. Ibrahima Pierre	NDIAYE	Neurologie
M. Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
M. Papa Demba	NDIAYE	Anatomie Pathologique
M. Mamadou	NDOYE	Chirurgie Infantile
M. René	NDOYE	Biophysique
M. Abibou	SAMB	Bactériologie-Virologie
* M. Abdou	SANOKHO	Pédiatrie
Mme Awa Marie COLL	SECK	Maladies Infectieuses
M. Ibrahima	SECK	Biochimie Médicale
M. Dédéou	SIMAGA	Chirurgie Générale
* M. Abdourahmane	SOW	Maladies Infectieuses
M. Ahmédou Moustapha	SOW	Médecine Interne (Clin.Méd.II)
M. Housseyn Dembel	SOW	Pédiatrice
M. Moussa Lamine	SOW	Anatomie
M. Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie Générale
M. Papa	TOURE	Cancérologie
M. Alassane	WADE	Ophtalmologie
M. Ibrahima	WONE	Médecine Préventive

* Personnel en détachement

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. José-Marie	AFOUTOU	Histologie-Embryologie
M. Mamadou	BA	Pédiatrie
M. Serigne Abdou	BA	Cardiologie
M. Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique
M. Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie-Obstétrique
* M. Mamadou Diakhité	BALL	Dermatologie
M. Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie
M. Mounirou	CISS	Toxicologie
M. Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
M. Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
M. Baye Assane	DIAGNE	Urologie
M. Babacar	DIOP	Psychiatrie
M. El Hadj Ibrahima	DIOP	Orthopédie-Traumatologie
M. Saïd Nourou	DIOP	Médecine Interne (Clin. Méd. II)
M. Souvasin	DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
M. Babacar	FAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
Mme Sylvie SECK	GASSAMA	Biophysique
M. Momar	GUEYE	Psychiatrie
M. Abdoul Almamy	HANE	Pneumophtisiologie
M. Salvy Léandre	MARTIN	Pédiatrie
M. Madoune Robert	NDIAYE	Ophtalmologie
M. Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie générale
Mme Mbayang	NDIAYE NIANG	Physiologie
M. Mohamed Fadel	NDIAYE	Médecine Interne (Clin. Méd. I)
M. Omar	NDIR	Parasitologie
Mme Bineta	SALL KA	Anesthésiologie
M. Mamadou	SARR	Pédiatrie
M. Seydina Issa Laye	SEYE	Orthopédie-Traumatologie
M. Omar	SYLLA	Psychiatrie
M. Meissa	TOURE	Biochimie Médicale

* Personnel en détachement

SECTION MEDECINE

CHARGES D'ENSEIGNEMENTS

M. Jean-Pierre	BENAIS	Médecine Légale
M. Mohamadou Guélaye	SALL	Pédiatrie
M. Moustapha	SARR	Cardiologie

MAITRES-ASSISTANTS

M. Mamadou	BA	Urologie
M. Moussa	BADIANE	Radiologie
M. El Hadj Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
M. Michel	DEVELOUX	Dermatologie
M. Abdarahmane	DIA	Anatomie
M. Massar	DIAGNE	Neurologie
M. Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M. Bernard Marcel	DIOP	Maladies Infectieuses
M. Raymond	DIOUF	O.R.L.
M. Babacar	FALL	Chirurgie Générale
M. Ibrahima	FALL	Chirurgie Générale
Mme Mame Awa	FAYE	Maladies Infectieuses
M. Oumar	GAYE	Parasitologie
M. Serigne Maguèye	GUEYE	Urologie
M. Claude	MOREIRA	Pédiatrie
M. Jean-Charles	MOREAU	Gynécologie-Obstétrique
M. Adama Bandiougou	NDIAYE	Immunologie (Hématologie)
M. Niama Diop	SALL	Biochimie Médicale
M. Papa Amadou	NDIAYE	Ophthalmologie
M. Gora	SECK	Physiologie
Mme Haby	SIGNATE SY	Pédiatrie
Mme Hassanatou TOURE	SOW	Biophysique

ASSISTANTS DE FACULTE - ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

M. Jean-Marie	DANGO	Anatomie Pathologique
M. Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
M. Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
M. Yémou	DIENG	Parasitologie
M. Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
M. Mamadou	DIOP	Histologie-Embryologie
M. Moctar	DIOP	Anatomie

Mme Mame Coumba GAYE	FALL	Médecine Légale
M. Oumar	FAYE	Parasitologie
Mme Gisèle WOTO	GAYE	Anatomie Pathologique
M. Lamine	GUEYE	Physiologie
M. Ismaïla	MBAYE	Médecine Légale
M. Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie
Mme Khadissatou FALL	SECK	Hématologie
M. Ahmad Iyane	SOW	Bactérie-Virologie
Mme Hassanatou TOURE	SOW	Biophysique
Mme Anta TAL	DIA	Médecine Préventive
M. Kamadore	TOURE	Médecine Préventive

CHEFS DE CLINIQUE - ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

M. El Hadj Amadou	BA	Ophtalmologie
M. Momar Codé	BA	Neuro-Chirurgie
M. Moussa	BA	Psychiatrie
M. Seydou Boubakar	BADIANE	Neuro-Chirurgie
M. Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
M. Chekh Ahmed Tidiane	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
Mme Mairama Safiétou KA	CISSE .	Médecine Interne (Clin.Méd.II)
Mme Elisabeth Feller	DANSOKHO	Maladies Infectieuses
M. Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
M. Saïdou	DIALLO	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Mame Thierno	DIENG	Dermatologie
M. Papa Ndiouga	DIENG	Anesthésiologie
M. Ibrahima Bara	DIOP	Cardiologie
M. Rudolph	DIOP	Stomatologie
M. Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Boucar	DIOUF	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Ibrahima Fodé	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M. Mamadou Lamine	DIOUF	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Saliou	DIOUF	Pédiatrie
Mme Mariame BA	GUEYE	Gynécologie-Obstétrique
M. Limamoulaye	HANE	Cardiologie
M. Mamadou Mourtalla	KA	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Abdoul Aziz	KASSE	Cancérologie
M. David River	KERE	Cancérologie
Mme Aminata DIACK	MBAYE	Pédiatrie
M. Mouhamadou	MBENQUE	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Amadou Koura	NDAO	Neurologie
Mme Mame Awa FAYE	NDAO	Maladies Infectieuses
Mme Coura SEYE	NDIAYE	Ophtalmologie
M. Issa	NDIAYE	O.R.L.
M. Alain Khassim	NDOYE	Urologie
Mme Nafissatou BATHILY	NDOYE	Ophtalmologie
M. Thierno Souleymane	NIANE	Radiologie

M. El Hadj	NIANG	Pneumophtisiologie
M. Abdoulaye	POUYE	Médecine Interne (Clin.Méd.I)
M. Youssoupha	SAKHO	Neuro-Chirurgie
Melle Anne Aurore	SANKALE	Chirurgie Générale
Melle Anna	SARR	Médecine Interne (Clin.Méd.II)
M. Doudou	SARR	Psychiatrie
M. Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
M. Birama	SECK	Psychiatrie
M. El Hassane	SIDIBE	Médecine Interne (Clin.Méd.II)
M. Masserigne	SOUMARE	Maladies Infectieuses
M. Charles Mouhamed	SOW	Orthopédie-Traumatologie
M. Daouda	SOW	Psychiatrie
M. Papa Salif	SOW	Maladies Infectieuses
M. Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
M. Cheickna	SYLLA	Urologie
M. Gilbert	TENDING	O.R.L.
M. Alé	THIAM	Neurologie

ATTACHES - ASSISTANTS DES SCIENCES FONDAMENTALES

M. Aliou	KEBE	Physiologie
M. El Hadji Alioune	LO	Anatomie
M. Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
M. Issa	WONE	Médecine Préventive

SECTION PHARMACIE

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. Michel	POTDEVIN	Physique Pharmaceutique
M. Bernard	WILLER	Chimie Analytique

MAITRES - ASSISTANTS

M. Chekh Saad Bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
Mme Aïssatou GAYE	DIALLO	Bactériologie-Virologie
M. Alioune	DIEYE	Biochimie Pharmaceutique
M. Papa Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique
M. Amadou	DIOUF	Toxicologie
Mme Rita BEREHOUNDOUGOU	NONGONIERMA	Pharmacognosie

ASSISTANTS

Melle Issa Bella	BAH	Parasitologie
M. Aynina	CISSE	Physique Pharmaceutique
Mme Aminata Sall	DIALLO	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacologie & Pharmacodynamique)
M. Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
Melle Thérèse	DIENG	Parasitologie
M. Ahmédou Bamba K.	FALL	Pharmacie galénique
Mme Aminata SANOKHO	GUEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamique
M. Modou	LO	Botanique
Mme Philomène	LOPEZ	Biochimie Pharmaceutique
M. Tharcisse	NKULINKIYE MFURA	Chimie Analytique
Mme Maguette Dème SYLLA NIANG		Biochimie Pharmaceutique
M. Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
Mme Aïssatou GUEYE	SANKHARE	Toxicologie
M. Elimane Amadou	SY	Chimie Générale et Minérale
M. Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique
M. Alassane	WELE	Chimie Physique

ATTACHES

M. Idrissa	BARRY	Pharmacognosie
Melle Ourèye	DABO	Pharmacognosie
M. Amadou Mactar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M. Alioune Badara	DIOP	Pharmacie Galénique
M. Djibril	FALL	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Aly Coto	NDIAYE	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacodynamie)
M. Bara	NDIAYE	Chimie Analytique
Mme Maimouna NIANG	NDIAYE	Physiologie Pharmaceutique (Pharmacologie et Pharmacodynamie)
M. Boubacar	NIANE	Chimie Analytique
M. Matar	SECK	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M. Mamadou	TOURE	Biochimie Pharmaceutique

SECTION CHIRURGIE DENTAIRE

MAITRES - ASSISTANTS

M. Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
Mme Fatou	GAYE	Dentisterie Opérateur
M. Abdoul Wahabe	KANE	Dentisterie Opérateur
Mme Charlotte Faty	NDIAYE	Pathologie et Thérapeutique Spéciale
M. Malick	SEMBENE	Parodontologie
M. Abdoul Aziz	YAM	Pathologie et Thérapeutique Dentaires

ASSISTANTS DE FACULTE

Mme Christiane AGBOTON	JOHNSON	Prothèse Dentaire
Mme Aïssatou	BA TAMBA	Pédodontie Préventive
Mme Khady DIOP	BA	Orthopédie Dento-Faciale
Mme Maimouna	BADIANE	Dentiste Opérateur Fondamentales
M. Daouda	CISSE	Odontologie Préventive et Sociale
M. Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
Mme Adam Marie Awa SECK	DIALLO	Parodontologie
M. Boubacar	DIALLO	Odontologie Chirurgicale
Mme Affissatou NDOYE	DIOP	Dentiste Opérateur
M. Libasse	DIOP	Prothèse Dentaire
Mme Fatou	DIOP	Pédodontie - Prévention
M. Mamadou Moustapha	GUEYE	Odontologie Préventive et Sociale
M. Malick	MBAYE	Dentisterie Opérateur
Mme Paulette Mathilde	MIGAN AGBOTON	Matières Fondamentales
M. Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
Mme Maye Ndave NDOYE	NGOM	Parodontologie
M. Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire
Mme Soukèye DIA	TINE	Pathologie & Thérapeutique Spéciales
M. Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire
M. Younes	YOUNES	Prothèse Dentaire

ATTACHES

Mme Marie Suzanne TINDINGBADJI
M. Cheikh NDIAYE
M. Paul Débé NIANG

Odontologie Chirurgicale
Prothèse Dentaire
Odontologie Chirurgicale

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL...

AU SEIGNEUR

DIEU TOUT-PUISSANT

DIEU DE MISERICORDE

SANS TOI, NOUS NE POUVONS RIEN FAIRE.

IN MEMORIAM

A MES GRANDS-PARENTS

Reposez en paix

A MON PERE

J'aurais bien aimé que tu sois là aujourd'hui.

Tu es parti en laissant un grand vide dans nos coeurs

*Tu as fait de nous, avec l'aide de Dieu, ce que nous sommes
devenus aujourd'hui.*

Même loin de nous, tu demeureras toujours un modèle à suivre.

QUE LA PORTE DU PARADIS TE SOIT GRANDE OUVERTE !

A MON ONCLE BERNARD DIOUF

A MADIOR DIOUF

A MA MERE

*Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance ainsi que
l'amour et le respect que j'ai pour toi.*

*Que ce modeste travail te procure la joie et la satisfaction du devoir
accompli.*

*QUE DIEU T'ACCORDE LONGUE VIE AFIN QUE NOUS PUISSIONS SAVOURER
ENSEMBLE LE FRUIT DE TES NOMBREUX SACRIFICES CONSENTIS.*

A NOTRE AINE JEAN-NOEL

Tu es pour nous plus qu'un frère ; un Père

*Ta générosité sans limites, ton esprit de sacrifice et ta détermination
m'ont toujours donnés le courage d'affronter tous les obstacles.*

J'ai toujours apprécié l'estime et l'amour fraternel que tu me portes.

CE TRAVAIL EST AUSSI LE TIEN !

A MA GRANDE SOEUR BETTY

Ton assistance et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut.

Tu as toujours été brave, humble et dévouée à notre égard.

Je ne saurais être à la hauteur des nombreux sacrifices auxquels tu as consentis pour que je ne sois privée de rien.

Je te promets de tout faire pour mériter l'Amour que tu me voues.

Sincères reconnaissances pour le fastidieux travail de dactylographie.

A MON GRAND-FRERE FREDERIC PHILIPPE

Tu as toujours su assumer ton rôle. Sans ton soutien et ton affection, je ne saurais venir à bout de toutes les difficultés.

J'ai toujours pu compter sur toi.

A MES PETITS FRERES ET SOEURS :

ROSE, MARIE-THÉRÈSE, PAUL FRANÇOIS, VÉRONIQUE, JOSÉPHINE,

Ne voyez pas en moi un exemple à suivre, mais à surpasser.

A MON AMI ARMAND *Je suis fière de ton amitié.*

A MES AMIES ADAMA, JEANNE, MOÏBATOU

Vous m'avez mises dans des conditions idéales de travail par l'entente et la solidarité qui ont toujours régnées entre nous. Ce travail est le vôtre !

A TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE

ONCLES, COUSINS, NEVEUX, BEAUX-FRÈRES, BELLES-SOEURS

Merci pour votre soutien

A TONTON DAME NDIAYE & FAMILLE

Les mots sont bien peu de choses pour exprimer ce que nous vous devons. Je vous dédie ce travail pour vous témoigner mon affection et ma reconnaissance.

A HENRI DIOUF & TOUTE SA FAMILLE

A LA FAMILLE DIENE

A LA FAMILLE SOW

A PAUL NDIAYE & FAMILLE

A MARIE-LOUISE THIAW & MARCEL SENE

Mes confidents. Votre générosité a forgé notre estime

A IDRISSE SY & FAMILLE

A MA FILLEULE Madeleine Fatime SENE

A PAPE AMADOU NDIAYE, BABACAR DIOUF, ISSA WADE, BOUBACAR NDIAYE, & OMAR SENE

Plus que des amis, vous êtes de véritables frères.

Ce travail est aussi le vôtre. Soyez assurés de ma profonde amitié.

A TOUS MES AMIS DE LA CITE ALIN SITOYE DIATTA, DE LA CITE UNIVERSITAIRE, ET CEUX DONT JE NE SAURAI CITER LES NOMS,

Qui, j'en suis sûre, sauront se reconnaître.

A L'AJECF

Pour l'union et le développement de notre Paroisse.

A TOUS MES CAMARADES DE PROMOTION

A MES FUTURS ENFANTS

AU PERSONNEL DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE

Pour leur aimable collaboration

A TOUS CEUX QUI ONT PARTICIPE A MA FORMATION

A NOS MAITRES ET JUGES

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY,

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOUDOU BA

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider le jury de cette thèse nous honore ; nous en sommes très sensibles.

Nous avons beaucoup apprécié la compétence et la rigueur dont vous avez fait preuve durant notre cursus universitaire.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOULEYMANE MBOUP

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de diriger et de juger notre thèse malgré vos multiples occupations. Vous avez guidé nos premiers pas en nous acceptant dans votre service.

Nous avons apprécié l'aide précieuse que vous avez apportée pour la réalisation de ce travail, votre rigueur scientifique, vos nombreuses qualités humaines, votre attention à l'égard des autres.

Soyez assuré de notre estime et de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOUSSA FAFA CISSE

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger à notre jury de thèse. Nous avons apprécié la disponibilité dont vous avez fait preuve à notre égard.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance ainsi que nos hommages respectueux.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,

LE MAITRE DE CONFERENCES AGREGE MAMADOU BADIANE

Nous avons pu apprécier, lors de vos brillants cours de chimie thérapeutique, votre rigueur scientifique, votre sens du travail bien fait, ainsi vous constituez pour nous une référence en matière de compétence scientifique.

Votre disponibilité, votre amabilité, votre simplicité sont les compléments de vos hautes qualités d'enseignant. Votre jugement constitue pour nous un immense honneur.

Tous nos sincères remerciements et nos sentiments respectueux.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE,

LE DOCTEUR CHEIKH SAAD-BOUH BOYE

Les mots sont bien peu de choses pour exprimer ce que nous vous devons. Au-delà de ce travail que vous avez minutieusement suivi, malgré vos innombrables tâches, nous avons eu l'occasion d'apprécier en vous d'inestimables qualités humaines.

CE TRAVAIL EST LE VÔTRE.

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements les plus sincères.

REMERCIEMENTS

- ◆ AU DOCTEUR FRANCOIS D. DIONE &
A TOUT LE PERSONNEL DE LABOREX DAKAR PLATEAU
Profonde reconnaissance

- ◆ A AMADOU OUANGRE
Pour toutes les belles photos que vous nous avez faites
Merci infiniment.

- ◆ A OMAR SANE et DJIBY SAMBOU
Un grand merci

- ◆ A Madame KANE Ndèye Coumba Touré et Babacar GNINGUE
Pour l'aide matérielle que vous nous avez apportée.
Un grand merci

- ◆ A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE,
en particulier Omar KAIRE et Leyfou DABO
En témoignage de mes sentiments très respectueux.

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

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	=	Acide désoxyribonucleique
ALA	=	Alanine
AM	=	Ampicilline
AMC	=	Amoxicilline + Acide clavulanique
AMX	=	Amoxicilline
ATM	=	Aztréonam
BCP	=	Bromocrésol pourpre
BLSE	=	Bêta-lactamase à spectre élargi
BN	=	Bas niveau
CAT	=	Chloramphénicol Acétyl Transférase
CAZ	=	Ceftazidime
CFP	=	Céfopérazone
CMI	=	Concentration minimale inhibitrice
CRO	=	Ceftriaxone
CSP	=	Céphalosporine
CTX	=	Céfotaxime
CXM	=	Céfuroxime
CZ	=	Céfazoline
E	=	Enzyme
EP	=	Eau peptonée
Gln	=	Glutamine
Glu	=	Acide glutamique
Gly	=	Glycine
HN	=	Haut niveau
Leu	=	Leucine
Lys	=	Lysine
LCR	=	Liquide céphalorachidien
Met	=	Méthionine
ORL	=	Otorhinolaryngologie
OXA	=	Oxacilline
Péni G	=	Pénicilline G

PLAN

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	
CHAPITRE I : LES BETA-LACTAMASES	
I.1.- Les bêta-lactamines	
I.1.1.- Caractéristiques	3
I.1.2.- Classifications des bêta-lactamines	6
I.2.- Origine, structure, localisation des bêta-lactamases	8
I.2.1.- Origine des bêta-lactamases	8
I.2.2.- Structure	9
I.2.3.- Localisation	11
I.3.- Mécanisme d'action des bêta-lactamases	11
I.4.- Classification des bêta-lactamases	16
I.4.1.- Classification de RICHMOND & SYKES	17
I.4.2.- Classification de PAYNE et AMYES	19
I.4.3.- Classification chimique	20
I.5.- Les inhibiteurs des bêta-lactamases	21
I.5.1.- Différents types d'inhibiteurs	23
I.5.2.- Classification des inhibiteurs	24
I.5.3.- Mode d'action des inhibiteurs	25
I.5.4.- Les effets des inhibiteurs des bêta-lactamases	25
I.5.5.- Propriétés des inhibiteurs	27
I.5.6.- Application	27
CHAPITRE II : LES SOUCHES BACTERIENNES MULTIRESISTANTES	
II.1.- Notion de résistance	30
II.2.- Différents types de résistance	31
II.3.- Différents mécanismes de la résistance bactérienne	32
II.3.1.- Mécanisme génétique	32
II.3.1.- Mécanisme biochimique de la résistance	35

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

CHAPITRE I : CADRE DE L'ETUDE - HOPITAL A. LE DANTEC	45
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
II.1.- Souches bactériennes	46
II.2.- Matériels et réactifs	49
II.3.- Méthodes	51
II.3.1.- Méthodes de détection des bêta-lactamases	51
II.3.2.- Critères de classification des bêta-lactamases	56
II.3.3.- Exploitation des résultats	57
CHAPITRE III : RESULTATS	
III.1.- Profil de résistance des souches bactériennes	59
III.2.- Résultats de la recherche des bêta-lactamases	62
III.2.1.- Fréquence globale des bêta-lactamases	62
III.2.2.- Fréquence de détection des bêta-lactamases	62
III.2.3.- Analyse des résultats de la détection des bêta-lactamases par la technique iodimétrique et selon les substrats	65
III.2.4.- Analyse des résultats de la détection des bêta-lactamases par la technique acidimétrique	72
III.2.5.- Etude comparée de deux méthodes	75
III.2.6.- Recherche de BLSE	81
III.3.- Analyse des phénotypes de bêta-lactamase	83
III.3.1.- Phénotypes de bêta-lactamases	83
III.3.2.- Niveau de résistance des phénotypes de bêta- lactamases en fonction des substrats	87
III.4.- Corrélation phénotypes de bêta-lactamases selon le substrat et phénotype de résistance à l'antibiogramme	90
III.5.- Essai de classification des types de bêta- lactamases fréquents	90
CHAPITRE V : DISCUSSIONS	
IV.1.- Résistance des souches bactériennes aux bêta-lactamines	98
IV.2.- Bêta-lactamases et résistance bactérienne	100
IV.3.- Typage des bêta-lactamases	105
CONCLUSION	108
BIBLIOGRAPHIE	

INTRODUCTION

L'antibiothérapie est sans conteste l'une des plus grandes découvertes de l'histoire médicale. Elle est d'un apport fondamental dans l'évolution de la médecine humaine, en particulier de la thérapeutique anti-infectieuse.

En effet, en 1929, Fleming découvrit la Pénicilline (extraite du *Penicillium notatum*) qui reste l'antibiotique de première intention dans les maladies aussi graves que la pneumonie à pneumocoque.

Depuis il y a eu une succession régulière de nouvelles familles, essayant de pallier en grande partie les insuffisances des précédentes.

Pourtant, avant même que la pénicilline ne soit utilisée en thérapeutique, ABRAHAM et CHAIN observent, en 1940, que des extraits de différentes bactéries détruisent cette pénicilline et l'agent responsable de l'activité en cause fut dénommé pénicillinase quatre ans plus tard.

Donc, il y a eu des échecs thérapeutiques dûs au développement de souches microbiennes résistantes aux antibiotiques. Cette résistance peut être naturelle ou acquise et peut emprunter plusieurs mécanismes, génétique ou biochimique, allant de l'imperméabilité au niveau des porines, à la modification de la structure du site d'action et à l'inactivation enzymatique de l'antibiotique.

Le mécanisme le plus important et le plus souvent mis en jeu est celui lié à la sécrétion d'enzymes inactivantes.

Ainsi les bactéries peuvent sécréter plusieurs enzymes comme les acétylases dans le cas du chloramphénicol, les phosphorylases et acétylases dans le cas des aminosides, les bêta-lactamases dans le cas des bêta-lactamines.

Ces dernières occupent une place de choix dans la mesure où elles permettent d'inactiver les bêta-lactamines, famille la plus représentative des antibiotiques.

Ces bêta-lactamases peuvent être mises en évidence :

- soit par l'antibiogramme par observation de la zone d'inhibition ;
- soit par l'augmentation brusque de la CMI ;
- soit par des tests utilisant des méthodes iodimétriques, acidimétriques et chromogéniques.

Les bêta-lactamases étant elles-mêmes différentes par leur nature, leur structure et leur spectre d'activité, nous essayerons de les classer par le profil des substrats qu'elles hydrolysent.

Des études récentes ont été effectuées sur la détection des bêta-lactamases ; mais les substrats antibiotiques testés s'avèrent insuffisants pour leur classification. Notre étude permettra, avec plus de substrats, de les détecter et de les classer.

Ainsi, notre étude comprendra deux volets :

- * D'abord, les généralités avec l'étude de la résistance bactérienne et en particulier des bêta-lactamases ;
- * Ensuite, la méthodologie avec une présentation des souches bactériennes, du matériel et des méthodes de travail, les résultats et enfin la discussion.

Nous allons procéder :

- A la détection des bêta-lactamases par un test sensible chromogénique, le test à la céfinase, puis par les tests acidimétrique et iodimétrique ;
- A leur phénotypage ;
- Puis à leur classification en différents types.



PREMIERE PARTIE

GENERALITES



CHAPITRE I :
LES BETA-LACTAMASES

I.1.- LES BETA-LACTAMINES

Les bêta-lactamines constituent la plus vaste et la plus prolifique famille d'antibiotiques utilisés en thérapeutique, caractérisés par ailleurs par une croissance exponentielle constante et par une structure spéciale.

I.1.1.- Caractéristiques

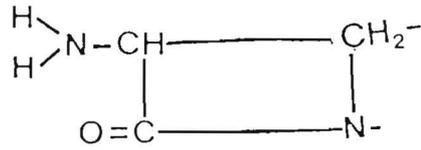
Les bêta-lactamines sont caractérisées par leur structure et leur mécanisme d'action.

- **Structure (figures 1 & 2)** : Ces bêta-lactamines ont en commun le cycle bêta-lactame, support de l'activité anti-bactérienne dont l'ouverture conduit à des produits inactifs. Ce cycle peut être accolé ou non à un hétérocycle ; il est isolé dans le cas des monobactams et accolé à un hétérocycle pentagonal dans les pénicillines (cycle thiazolidine), hexagonal dans les céphalosporines (cycle dihydrothiazine). Les molécules diffèrent les unes des autres par les chaînes latérales substituant l'acide 6-aminopénicillanique (6 A.P.A.) des pénicillines, ou l'acide 7-amino céphalosporanique (7 A.C.A.) des céphalosporines (**figure 1**) cas des dérivés "*classiques*". D'autres dites "*non classiques*" ont un noyau central un peu modifié mais possèdent une structure apparentée (6, 62).

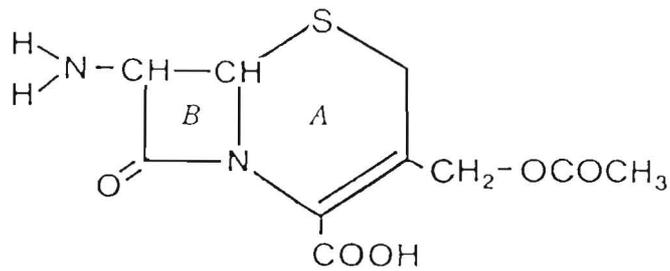
- **Mécanisme d'action** : Toutes les bêta-lactamases ont le même mécanisme d'action. Elles bloquent la synthèse du peptidopolycane ou muréine, constituant de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif, en inhibant la transpeptidase ayant un rôle régulateur dans cette synthèse (9).

L'action des bêta-lactamines est liée à la structure de la paroi bactérienne. Leur pénétration est limitée par la membrane externe que possèdent uniquement les bactéries à Gram négatif, celle-ci agissant en tant que barrière hydrophobe. Les bêta-lactamines étant des molécules hydrophiles, elles ne peuvent traverser cette barrière facilement qu'au niveau des porines.

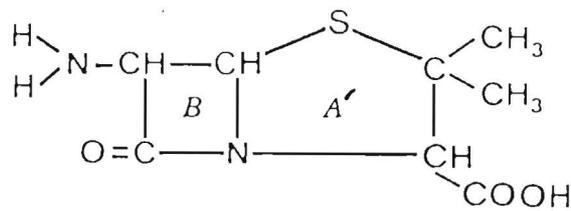
Figure 1 : Structure du cycle bêta-lactame et des dérivés aminés des bêta-lactamines



cycle β -lactame



Acide 7-amino-céphalosporanique (7 A.C.A.)



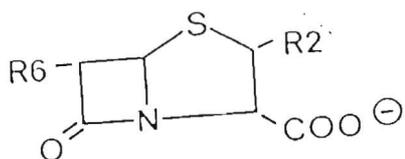
Acide 6-amino-pénicillanique (6 A.P.A.)

A = cycle dihydrothiazine

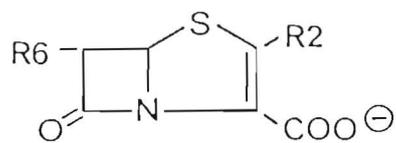
A' = cycle thiazolidine

B = cycle β -lactame

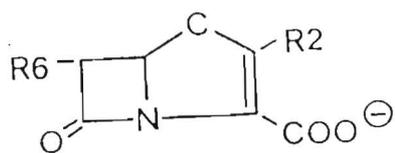
Figure 2 : Structure des différentes bêta-lactamines



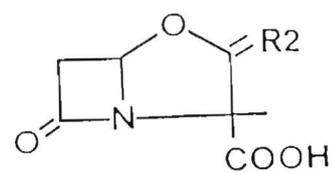
Penam



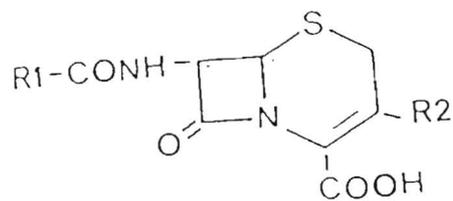
Penem



Carbapenem



Clavam



Céphalosporines

I.1.2.- Classification des bêta-lactamines

Cette famille d'antibiotiques comprend trois grands groupes selon l'ancienne nomenclature :

- les pénicillines,
- les céphalosporines,
- les monobactams.

Selon la structure des bêta-lactamines, on peut distinguer : (6)

I.1.2.1.- Les dérivés de l'acide 7-Aminocéphalosporanique

On distingue : les Céphalosporines, les Céfamycines et les oxacéphems.

Les céphalosporines peuvent être classées de plusieurs manières (7) :

- *classification de Wise,*
- *classification de O'Callaghan,*
- *classification en "génération".*

Nous retiendrons la dernière classification ; ainsi on distingue :

- **les céphalosporines de 1ère génération** : Céphalotine, Céfalo-ridine, Céfacétrile, Céfalexine, Céfazoline ...
- **les céphalosporines de 2ème génération** : Céfuroxime, Céfamandole, Céfoxitine, Céforanide ...
- **les céphalosporines de 3ème génération** : Céfotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime, Céfopérazone, Cefsulodine, Latamoxef ...

Les propriétés des céphalosporines diffèrent suivant la génération (**tableau I**).

Tableau I : Propriétés différentielles des Céphalosporines (39)

PROPRIETES	1ère génération	2ème génération	3ème génération
Stabilité céphalosporinase	-	++	+++
Activités intrinsèques	+	++	+++
Largeur de spectre	+	++	+++

- : *activité nulle ou faible*
- + : *activité faible*
- ++ : *bonne activité*
- +++ : *très bonne activité.*

1.1.2.2.- Les dérivés de l'acide 6-Aminopénicillanique

- Les pénams ou pénicillines,
- Les pénems,
- Les carbapénems,
- Les clavams.

1.1.2.3.- Les monobactams

La nouvelle nomenclature inclut dans les pénams :

- les uréidopénicillines (Mezlocilline, Azlocilline, Pipéracilline et Apalcilline);
- le sulbactam ou acide pénicillanique sulfone ;
- la témocilline.

I.2.- ORIGINE, STRUCTURE, LOCALISATION DES BETA-LACTAMASES

Les bêta-lactamases sont des enzymes produites aussi bien par les germes à Gram positif que par les germes à Gram négatif. Elles se définissent par rapport à leur cible ou site d'action, c'est-à-dire les bêta-lactamines, principale famille d'antibiotiques ayant en commun le cycle bêta-lactame dont la structure est précisée à la **figure 1**.

Dès 1940, ABRAHAM et CHAIN ont démontré que les souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) produisaient des enzymes responsables de la dégradation des Pénicillines et ces enzymes furent dénommées à tort Pénicillinases. Quelques années plus tard, une autre enzyme de ce type fut mise en évidence chez *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), puis chez d'autres espèces bactériennes.

Cependant la dénomination de bêta-lactamase fut proposée en 1960 par POLLOCK, englobant les Pénicillinases et les Céphalosporinases.

I.2.1.- Origine des bêta-lactamases

Suivant la nature de la bactérie productrice, nous avons deux (2) types de bêta-lactamases : (37, 46) :

- les *bêta-lactamases inductibles*,
- les *bêta-lactamases constitutives*.

- **Les bêta-lactamases inductibles** sont produites au contact des inducteurs, les bêta-lactamines, avec certains germes microbiens. Exemple : les Pénicillinases des germes à Gram positif comme *S. aureus* et les céphalosporinases des bacilles à Gram négatif. L'enzyme inductible est produite et est libérée dans le milieu extérieur en grande quantité.
- **Les bêta-lactamases constitutives** c'est-à-dire biosynthétisées en l'absence d'inducteur, produites en général par les bactéries à Gram négatif en quantité réduite et libérées dans l'espace périplasmique ; cas des bêta-lactamases chromosomiques des Klebsielles. Ces dernières ont une activité enzymatique plus élevée.

Donc les bactéries à Gram négatif peuvent avoir deux types de bêta-lactamases (55) (**tableau II**) :

- l'une codée par un chromosome ;
- l'autre, par un plasmide.

Les inducteurs agissent en chassant le répresseur fixé sur l'opéron situé sur le gène fonctionnel codant la synthèse de la bêta-lactamase.

L'effet inducteur varie selon les différentes bêta-lactamines. Ces molécules sont subdivisées en trois groupes :

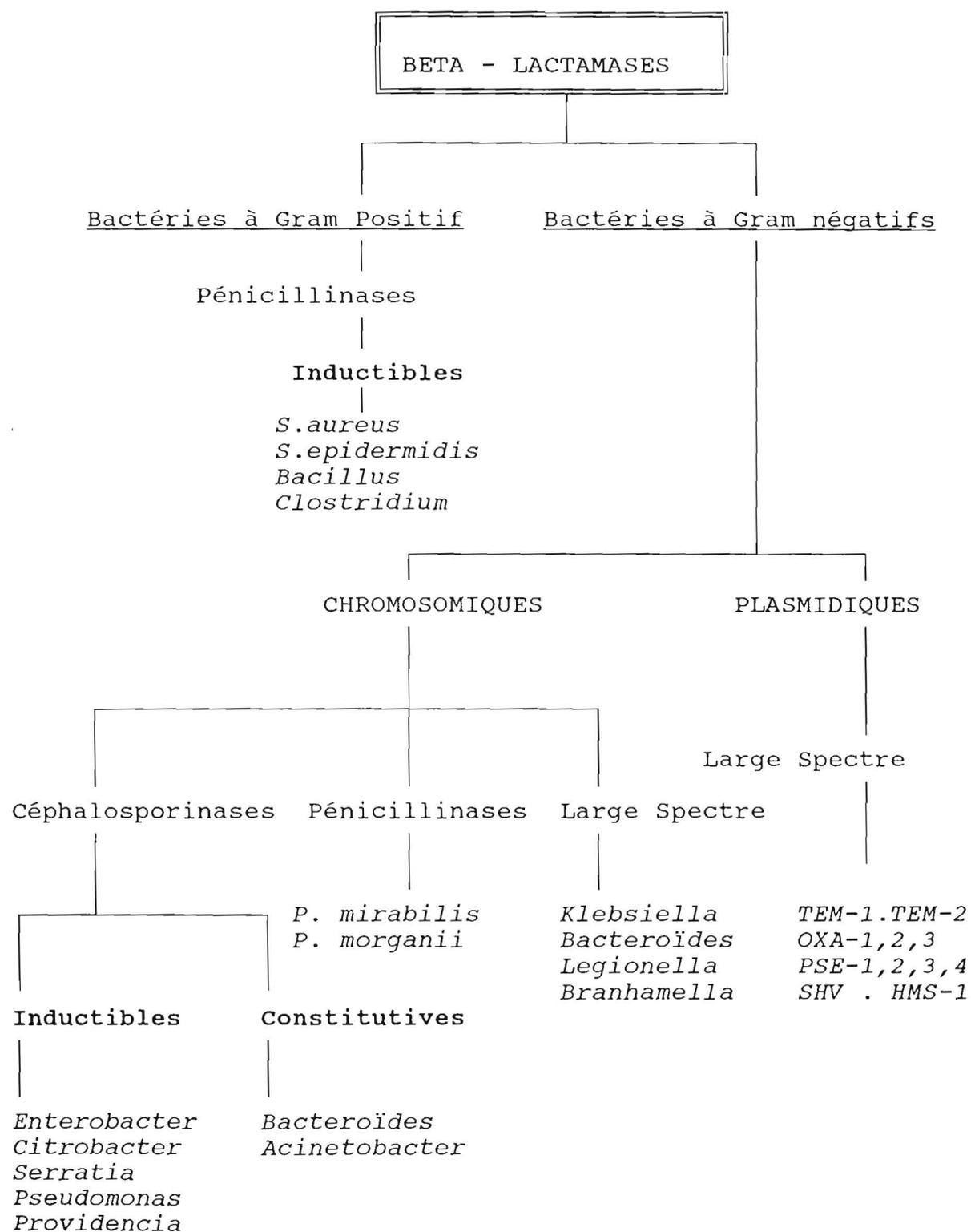
- la Céfoxitine considérée comme la plus inductrice ;
- la Carbénicilline, Céfuroxime, Céfotaxime, Ceftizoxime ayant une activité intermédiaire ;
- la Cefsulodine, la Pipéracilline, la Mécicilline, et la Céfopérazone considérées comme les moins inductrices. Un effet inducteur important a été observé avec l'Imipénem (8).

La synthèse des bêta-lactamases peut être de déterminisme génétique qui est de nature soit chromosomique (cas des céphalosporinases), soit extrachromosomique ou plasmidique (cas des pénicillinases de type TEM, OXA...). Un autre mécanisme génétique, relatif à la notion d'éléments transposables ou transposons peut intervenir dans cette synthèse.

I.2.2.- Structure (9)

Il existe une analogie structurale entre la PBP (Penicillin-Binding-Protein) et les bêta-lactamases vis-à-vis des bêta-lactamines. En effet, la séquence d'acides aminés est comparable et les bêta-lactamases comme les PBP ont un même résidu sérine au niveau du site de fixation des bêta-lactamines.

TABLEAU II : Les différentes bêta-lactamases



I.2.3.- Localisation

Les bêta-lactamases sont soit exocellulaires chez les germes à Gram positif, soit périplasmiques, c'est-à-dire au niveau de la paroi bactérienne des germes à Gram négatif. Ainsi, chez les entérobactéries et *Pseudomonas*, les bêta-lactamases ne diffusent que faiblement à travers la paroi. Pour les mettre en évidence, il faut casser la paroi par ultrasonication.

I.3.- MECANISME D'ACTION DES BETA-LACTAMASES

Les bêta-lactamases agissent en hydrolysant le noyau bêta-lactame des bêta-lactamines au niveau des liaisons amides avec formation de bêta-aminosides inactifs. Elles transforment les pénicillines en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque (**figures 3 et 4**).

Sur le plan biochimique, les bêta-lactamases se distinguent par une activité dirigée soit vers les pénicillines, soit vers les céphalosporines ou par un large spectre.

- **Les bêta-lactamases** qui hydrolysent les pénicillines sont appelées pénicillinasés. Elles hydrolysent préférentiellement la Pénicilline G, l'Ampicilline, les carboxypénicillines et uréidopénicillines. Le phénotype de résistance d'une pénicillinase à bas niveau est Ampicilline R, Carbénicilline R, Céfalotine S ou I, Amoxicilline + ac. clavulanique S.
- **Les bêta-lactamases** qui hydrolysent les céphalosporines sont appelées les céphalosporinasés. Elles hydrolysent préférentiellement les céphalosporines de première génération, à un moindre degré les aminopénicillines et uréidopénicillines mais sont peu actives sur les carboxypénicillines. Le phénotype de résistance d'une céphalosporinase à bas niveau est Ampicilline R, Carbénicilline R, Céfalotine R et Amoxicilline + ac. clavulanique R (9).

Figure 3 : Mécanisme d'action de la pénicillinase et dérivé inactif

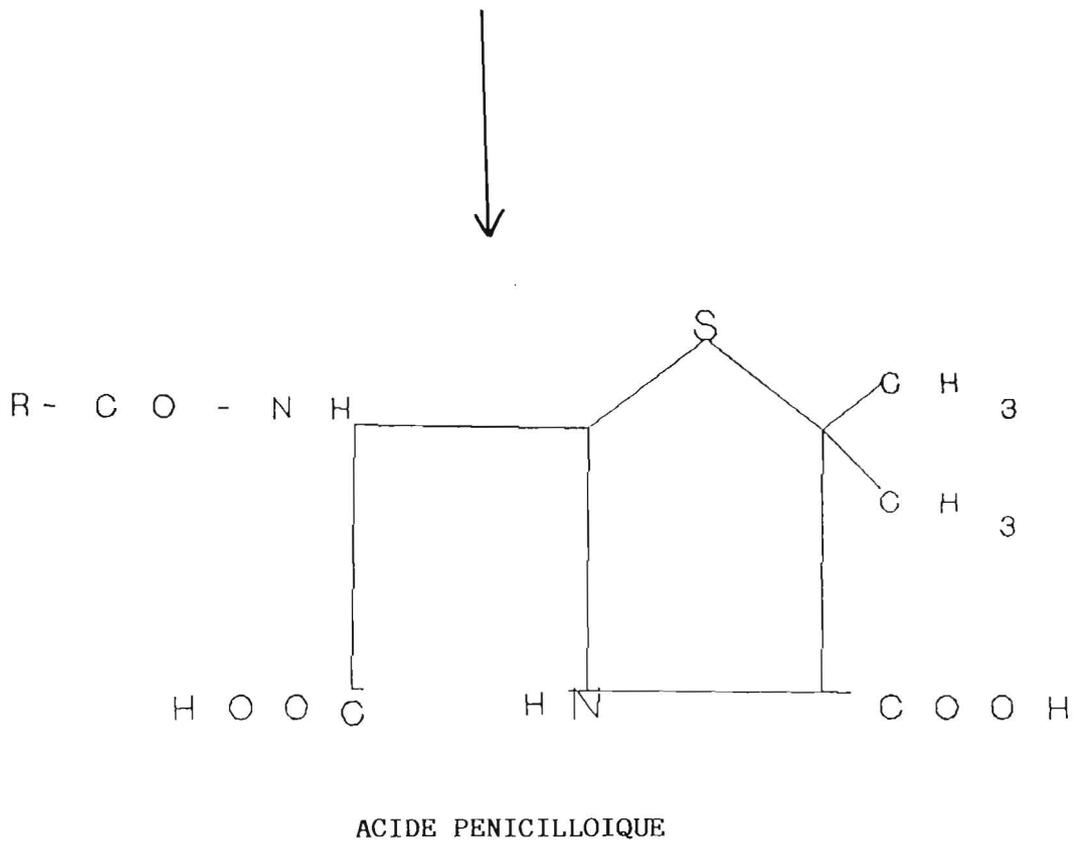
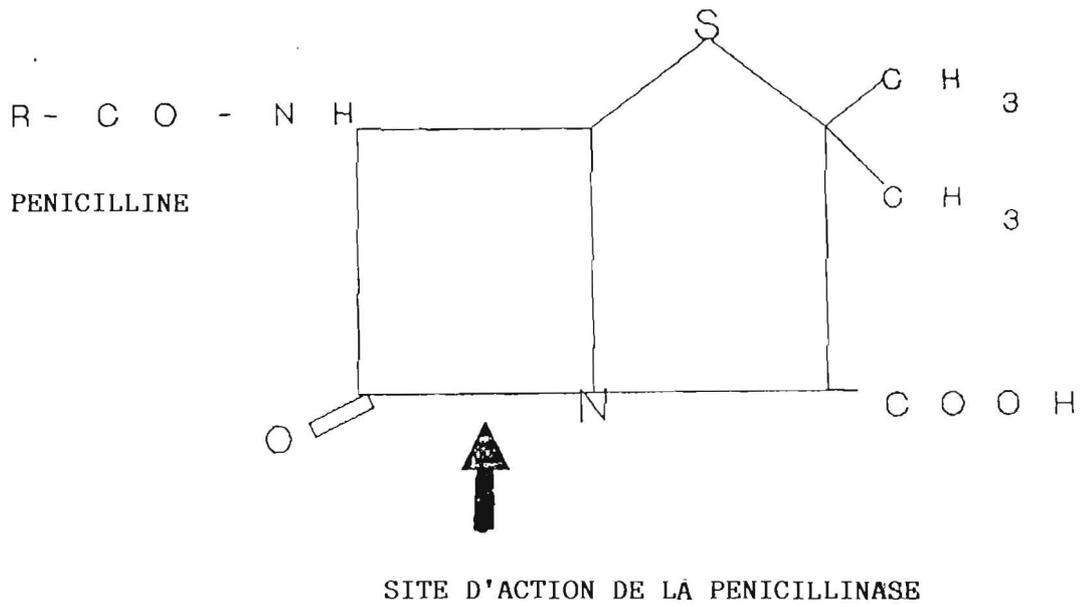
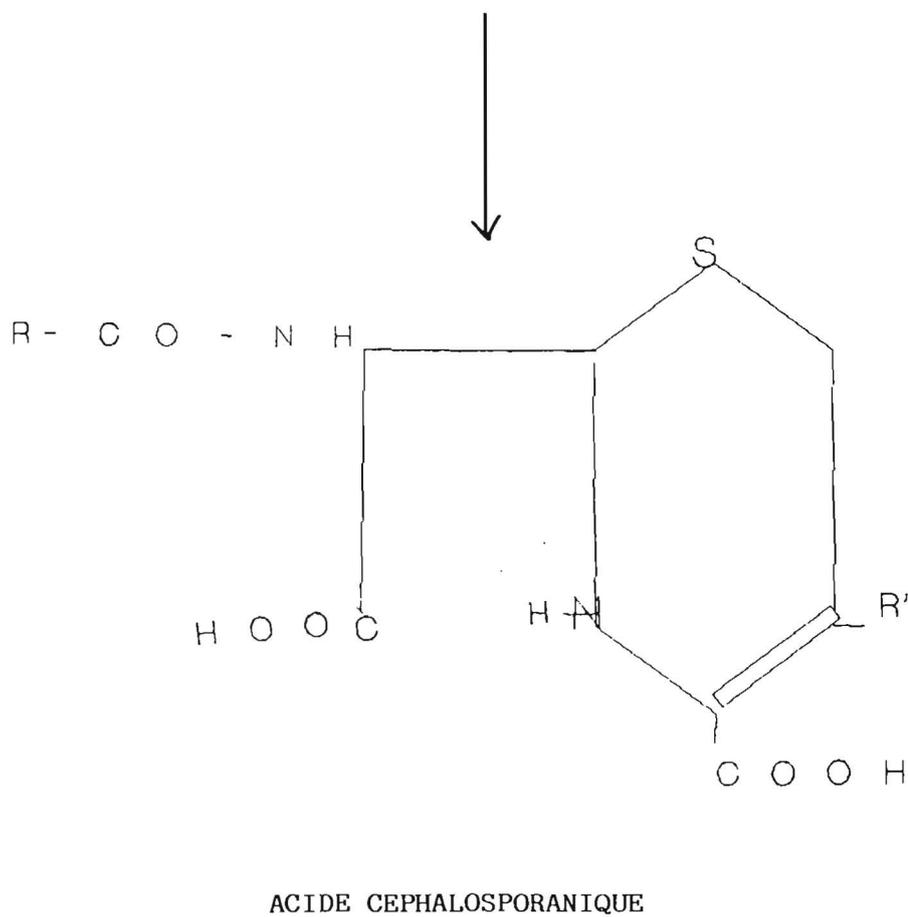
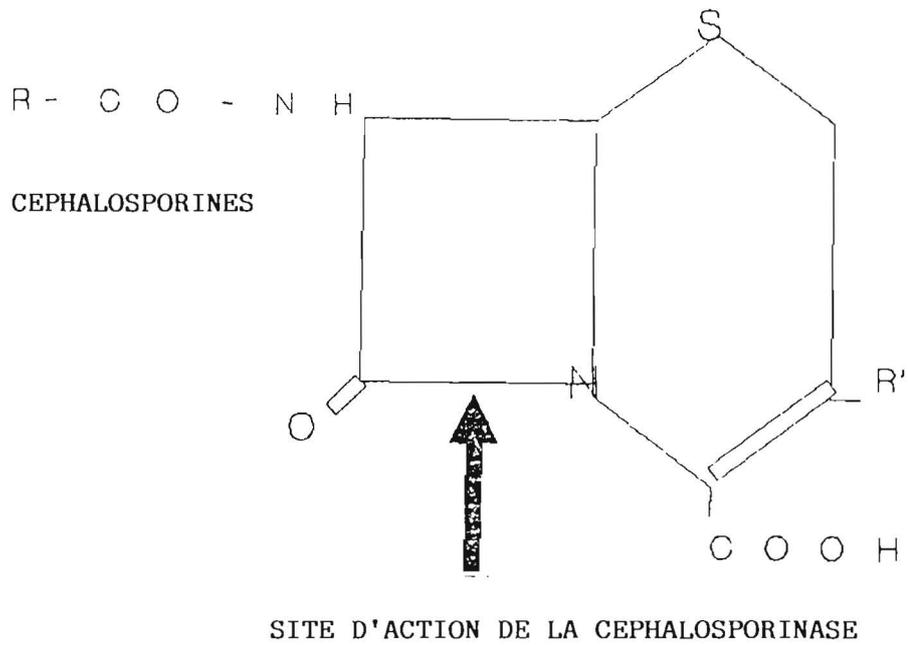


Figure 4 : Mécanisme d'action de la céphalosporinase et dérivé inactif



L'attaque hydrolytique d'une bêta-lactamase étant analogue à une réaction enzyme-substrat avec les constantes cinétiques de Michaelis-Menten, plusieurs paramètres vont contribuer à l'expression du niveau de résistance d'une population bactérienne vis-à-vis des bêta-lactamines :

- **L'affinité de l'enzyme pour le substrat (K_m)**. Cette constante caractérise la facilité de liaison conduisant au complexe enzyme-substrat, obligatoire au préalable à toute hydrolyse. Plus la valeur de K_m est basse, plus l'affinité est bonne.
- **La vitesse d'hydrolyse (V_m)** qui correspond à la vitesse maximale d'hydrolyse atteinte lorsque l'enzyme est saturée par son substrat.
- **La quantité d'enzyme biosynthétisée** qui interviendra et sera à l'origine de l'effet inoculum.
- **La localisation de l'enzyme** jouant un rôle dans l'expression de la résistance.
- **La diffusion de l'antibiotique à travers la membrane externe jusqu'au contact de l'enzyme (crypticité)**. La crypticité est définie comme le rapport de l'activité enzymatique vis-à-vis d'un substrat, des cellules bactériennes à paroi cassée sur l'activité enzymatique des cellules entières. Elle est fonction de la perméabilité de la membrane externe et de la cinétique de l'enzyme (8).

L'activité hydrolytique des différentes bêta-lactamases d'origine plasmidique par rapport aux bêta-lactamines est rapportée dans le **tableau III**.

Tableau III : Comparaison des taux d'hydrolyse (en %) de certaines céphalosporines vis-à-vis de bêta-lactamases d'origine plasmidique (39) par rapport au taux d'hydrolyse de 100 % de la céfaloridine

Enzyme	Ceftizoxime	Cefotaxime	Céfopérazone	Céfamandol	Latamoxef
TEM-1	< 1	< 1	70	75	< 1
TEM-2	< 0,1	< 0,1	60	65	< 0,1
OXA-2	< 0,1	< 0,1	200	250	< 0,1
SHV-1	0,1	< 0,1	150	180	0
PSE-1	< 0,1	< 0,1	250	ND	< 0,1
PSE-2	20	30	800	ND	10
PSE-3	< 0,1	< 0,1	5	ND	< 0,1
PSE-4	< 0,1	< 0,1	250	ND	< 0,1

ND = non déterminé.

L'activité hydrolytique des différentes enzymes est variable. Ainsi :

- **Les bêta-lactamases de type TEM-1, TEM-2, SHV-1, HMS-1** hydrolysent l'Ampicilline, la Carbénicilline et les Céphalosporines de 1ère et 2ème générations.
Le type TEM-1 est la bêta-lactamase plasmidique la plus répandue chez les bactéries à Gram négatif (8, 42).
- **Les bêta-lactamases de type OXA-1, OXA-2, OXA-3, OXA-4, OXA-5, OXA-6, OXA-7** hydrolysent l'isoxazolyl-Pénicilline, l'Ampicilline plus que la Céfaloridine.
- **Les bêta-lactamases PSE-1, PSE-2, PSE-4** hydrolysent plus l'Ampicilline et la Carbénicilline que la Céfaloridine.

I.4.- CLASSIFICATION DES BETA-LACTAMASES

Il existe des classifications nombreuses et complexes de ces enzymes. Elles reposent sur (9, 40, 65) :

- le profil de substrat,
- la technique d'isoélectrofocalisation sur gel de polyacrylamide,
- les inhibiteurs,
- le déterminisme,
- le poids moléculaire.

Nous retiendrons d'autres procédés de classification comme :

- *la classification de Richmond et Sykes,*
- *la classification de Payne et Amyes,*
- *la classification chimique.*

I.4.1.- La classification de Richmond et Sykes

Elle a été la première classification de référence. RICHMOND et SYKES ont divisé les bêta-lactamases en cinq classes (**tableau IV**).

Tableau IV : Classification de Richmond et Sykes des bêta-lactamases des bactéries à Gram négatif (9)

Médiation	Type	Class e	Inducti -bilité	Activité préférentielle		Inhibé par :		Principaux germes
				Péni	CSP	Cloxa	PCMB	
Chr	Case	Ia	I	-	+++	S	R	<i>Entérobacter</i> <i>Citrobacter</i>
Chr	Case	Ib	C	-	+	S	R	<i>E. coli</i>
Chr	Case	Ic	I	-	++	S	R	<i>Proteus vulgaris</i>
Chr	Case	Id	I	-	+	S	R	<i>Pseudomonas aerugi- nosa</i>
Chr	Pase	II	C	++	-	S	R	<i>Proteus mirabilis</i>
Pl	Case	III	C	+++	+	S	R	Médiation plasmidi- que type <i>TEM</i>
Chr	Case	IV	C	+	+	R	S	<i>Klebsiella species</i>
Pl	Pase	V	C	++	-	R	S	Médiation plasmidi- que type <i>OXA, PSE</i>

Chr = chromosomique

Pl = plasmidique

Case = céphalosporinase

Pase = pénicillinase

C = constitutive

I = inducible

S = sensible

R = résistant

CSP = céphalosporine

Cloxa = cloxacilline

PCMB = parachoromercuribenzoate.

La classe I : Céphalosporinases d'origine chromosomique de la plupart des *Pseudomonas* et de certaines entérobactéries.

La classe II : Pénicillinases d'origine chromosomique de *P. mirabilis*.

La classe III : Bêta-lactamases de type TEM d'origine plasmidique.

La classe IV : Bêta-lactamases chromosomiques à large spectre qui existent chez *Klebsiella* et *Bactéroïdes*.

La classe V : Groupe hétérogène regroupant les bêta-lactamases de type OXA et PSE.

Le tableau V ci-dessous indique qu'il existe des relations entre les différentes classifications. Il précise à titre d'exemple, les correspondances pour quelques bêta-lactamases plasmidiques de germes à Gram négatif (25, 35, 47).

Le type enzymatique OXA-4 est très proche de OXA-1 (36).

Tableau V : Nomenclature des différentes classifications de Bêta-lactamases (9, 51)

MATTEW	MITSUHASHI	PITTON	LABIA & PHILIPPON	RICHMOND & SYKES
Case	Case			I
TEM-1	type Ia	TEM-1 type 1		IIIa
TEM-2	type Ib	TEM-1 type 1		IIIa
SHV-1		TEM-1 type 2		IV
HMS-1				
OXA-1	type II			Va
OXA-2	type III			Vb
OXA-3				V
PSE-1	type IV		CARB-2	V
PSE-2			OXA-4	V
PSE-3			CARB-4	Ve
PSE-4			CARB-1	Vd

TEM = d'après Temoniera, nom du malade chez qui la première souche a été isolée.

HMS = Hedges, Matthew et Smith

PSE = *Pseudomonas* specific enzyme

SHV = sulphydryl variable

OXA = Oxacillinase

CARB = Carbénicillinase

Case = Céphalosporinase.

I.4.2.- Classification de Payne et Amyes (43, 65, 66)

Avec cette nouvelle classification, les bêta-lactamases ont été spécifiées. Ainsi, en fonction des valeurs des CMI de la Ceftazidime et de la Céfotaxime, on distingue différents groupes (tableau VI).

Tableau VI : Ancienne classification des bêta-lactamases à spectre élargi modifiée par Payne et Amyes (43, 66)

GROUPE S			Déno- mation	P I	CMI CAZ	(mg/l) CTX	ANNEE
	1	Céfotaximases à bas niveau	TEM-E1	5,41	32	0,13	1987
			TEM-E2	5,3	32	0,25	1982
			TEM-E4	5,61	16	<1	ns
			TEM-E7	5,41	16	0,06	ns
			CAZ-3	5,3	32	0,5	1987
			CAZ-10	5,6	4	0,03	1988
	2	Ceftazidimases	TEM-E3	5,55	128	1	1987
			TEM-6	5,9	128	1	1986
			TEM-9	5,5	256	1	ns
			TEM-10	5,55	64	0,5	1988
			CAZ-7	6,3	256	4	1988
			CAZ-PI	6,5	32	0,25	1988
Dérivés des TEM	3a	Céfotaximases à haut niveau	TEM-E3	6,3	16	8	1984
			TEM-4	5,9	16	8	1986
			TEM-5	5,55	64	16	1987
			CAZ-2	6,0	128	2	1987
			CAZ-6	6,5	512	8	1988
Dérivés des SHV	3b	Céfotaximases	SHV-2	7,7	4	4	1983
			SHV-3	7,3	4	4	1985
			SHV-4	7,8	128	32	1987
			SHV-5	8,2	128	8	1987
Origine inconnue	3c	Céfotaximases à haut niveau	FEC-1	8,2	13	200	ns
			DJP-1	7,9	nd	nd	1988

Tableau VI : Ancienne classification des bêta-lactamases à spectre élargi modifiée par Payne et Amyes (43, 66) (suite)

G R O U P E S		Déno- mi- nation	P I	CMI (mg/l)		ANNEE
				CAZ	CTX	
4	Céphalospori-nase à large spectre	BIL-1	8,8	64	16	1989
	Bêta-lactamases non groupables	FUR	7,5	2	1	1988
		MJ-1	5,35	<0,5	nd	ns
		MJ-2	5,55	nd	nd	ns
		sans nom 1	5,8	32	<0,5	1986
		sans nom 2	5,25	>64	0,5	1988

nd = non déterminé

ns = non spécifié

PI = point isoélectrique

1.4.3.- Classification chimique (4, 10, 65)

Elle est basée sur la structure chimique du site actif, notamment sa séquence en aminoacides et permet de distinguer trois classes :

- **La classe A :** qui comprend 4 enzymes caractérisées par un reste sérine en position 70 et lysine en position 73.
- **La classe C :** elle comprend 2 enzymes et comporte également un reste sérine en position 80 et lysine en position 83. La sérine de la bêta-lactamase de classe C chez *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*) P99 a été inhibée par une gamme de monoanions d'Aryl méthyl phosphonate monoester (52).
- **La classe B :** elle se différencie par la présence d'une fonction thiol qui, elle aussi, est voisine d'un reste lysine. L'activité bêta-lactamase est liée à la présence d'un atome de zinc. Une seule enzyme de cette classe B ou métalloenzyme a été identifiée.

Les nouvelles connaissances sur la structure des bêta-lactamases permettent de donner la différence entre la séquence en aminoacides des différents types d'enzymes (**tableau VII**).

Tableau VII : Séquence en aminoacides de différents types d'enzymes (66)

Position:	19	37	102	162	235	236	237	261
TEM-1	Leu	Gln	Glu	Arg	Ala	Gly	Glu	Thr
TEM-2	Leu	Lys	Glu	Arg	Ala	Gly	Glu	Thr
TEM-3	Leu	Lys	Lys	Arg	Ala	Ser	Glu	Thr
TEM-4	Phe	Gln	Lys	Arg	Ala	Ser	Glu	Met
TEM-5	Leu	Gln	Gln	Ser	Thr	Gly	Lys	Thr

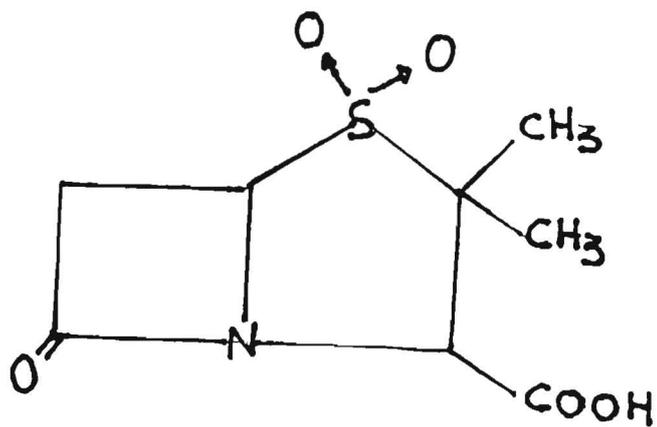
I.5.- LES INHIBITEURS DES BETA-LACTAMASES

La présence de très nombreuses bêta-lactamases plasmidiques ou chromosomiques a conduit les firmes pharmaceutiques à créer des molécules ou à modifier des structures déjà existantes afin de leur assurer une stabilité vis-à-vis de ces enzymes qui rompent des liaisons spécifiques au sein du noyau bêta-lactamine.

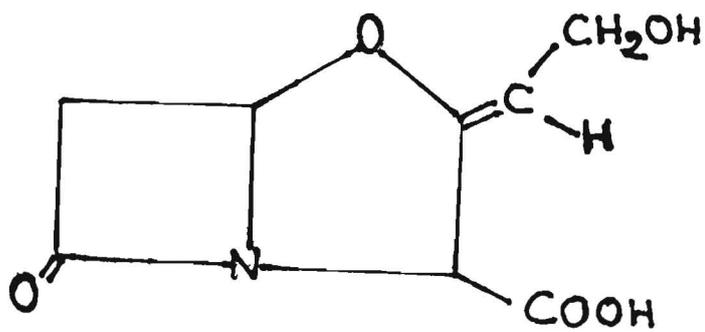
Parmi les bêta-lactamines, trois molécules qui sont des inhibiteurs des bêta-lactamases ont à l'heure actuelle fait la preuve de leur efficacité *in vitro*. Elles ont en commun un noyau Pénam où le soufre est remplacé par un oxygène pour l'acide clavulanique, par un sulfure pour le sulbactam et le Tazobactam (YTR 830) (**figure 7**).

Ces trois inhibiteurs entraînent une inactivation complète des bêta-lactamases essentiellement les pénicillinases ; ils sont très actifs aussi sur les bêta-lactamases à spectre élargi, chromosomiques et plasmidiques, généralement peu actifs sur les céphalosporinases. Compte tenu de leur activité intrinsèque très limitée, les inhibiteurs doivent être associés à d'autres bêta-lactamines ayant une bonne activité anti-bactérienne (forte affinité pour les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) (27).

Figure 7 : Structure de 2 inhibiteurs des bêta-lactamases



SULBACTAM



ACIDE CLAVULANIQUE

Pour lutter contre l'action des bêta-lactamases, on peut utiliser d'autres méthodes (37) :

- soit en augmentant la résistance des antibiotiques à l'hydrolyse par les bêta-lactamases ; cependant, il est difficile pour un antibiotique d'échapper à l'action de toutes les bêta-lactamases ;
- soit en inhibant la synthèse des bêta-lactamases. L'idéal pour un antibiotique serait qu'il soit en mesure d'agir sur les transpeptidases et de ne pas se fixer sur les bêta-lactamases.

Mais vu l'analogie structurale entre les sites des 2 enzymes, il est difficile d'atteindre ce but d'où la synthèse d'inhibiteurs des bêta-lactamases laissant le champ libre aux bêta-lactamines.

Il existe différents types d'inhibiteurs :

- chimiques,
- immunologiques,
- et bêta-lactamines inhibitrices.

I.5.1.- Différents types d'inhibiteurs

Deux types d'inhibiteurs sont décrits (4, 10, 27, 65).

1.5.1.1.- Les inhibiteurs substrats

Ces inhibiteurs ont une affinité avec l'enzyme supérieure à celle du substrat (bêta-lactamine). Ils forment avec la bêta-lactamase un complexe stable bloquant l'enzyme, l'empêchant d'attaquer la bêta-lactamine.

Exemples d'inhibiteurs substrats : *Méticilline, Cloxacilline, Carbénicilline.*

I.5.1.2.- Les inhibiteurs suicides

Ces inhibiteurs couvrent des composés porteurs d'un groupe peu réactif qui permettra une liaison covalente. L'enzyme catalyse ainsi sa propre destruction.

Exemple : *sulbactam, acide clavulanique*

I.5.2.- Classification des inhibiteurs (65)

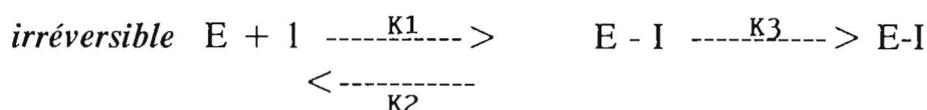
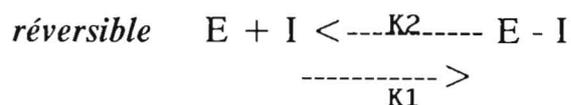
Il y a 5 classes de bêta-lactamines inhibitrices qui comprennent :

- 1°.- les pénicillines sulfones avec : le sulbactam ;
- 2°.- les carbapénèmes : Thiénamycine, Carpétimycines, Asparénomycines, PS5 ;
- 3°.- les dérivés halogènes de l'acide pénicillanique :
 - . l'acide méthylène 6-pénicillanique,
 - . l'acide bromo 6-B pénicillanique ;
- 4°.- l'acide clavulanique ;
- 5°.- le tazobactam ou l'YTR 830.

On peut en plus noter les céphalosporinases qui ne sont inhibées ni par le sulbactam, ni par l'acide clavulanique.

I.5.3.- Mode d'action des inhibiteurs (37, 50)

L'inhibiteur agit en formant avec l'enzyme, la bêta-lactamase, un complexe enzyme-substrat inhibiteur (E-I), pouvant être réversible ou irréversible.



Il est rare qu'une molécule d'inhibiteur soit pleinement efficace et se combine définitivement à l'enzyme.

L'idéal pour ce mécanisme, c'est la formation d'un complexe E-I stable et irréversible, permettant à la bêta-lactamine d'être libre, non inactivée, et de pouvoir agir après fixation sur les PBP.

I.5.4.- Les effets des inhibiteurs des bêta-lactamases (37)

L'effet le plus immédiat est l'abaissement considérable de la CMI des bactéries pour les bêta-lactamines (**tableau VIII**).

Tableau VIII : CMI comparée entre l'Amoxicilline seule et l'association Amoxicilline + acide clavulanique (37)

Souches	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Quantité d'acide clavulanique ($\mu\text{g/ml}$) ajoutée à l'Amox	CMI ($\mu\text{g/ml}$) Amox + acide clavulanique
<i>S. aureus</i>	197	5	0,12
<i>E. coli</i>	> 5000	10	2,97

Pour les souches d'*E. coli* porteuses de plasmides R, la CMI est abaissée de plus de 1000 fois. L'inhibition dépend cependant de la nature de :

- **la bactérie hôte**, portant le plasmide, lui-même déterminant la synthèse de la bêta-lactamase. Ainsi, la CMI est plus faible pour *E. coli* que pour *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), ce qui s'explique par la plus grande perméabilité d'*E. coli* à l'inhibiteur.
- **la bêta-lactamase**. Elle est constante avec les bêta-lactamases de type Pénicillinase, ou bêta-lactamases à spectre élargi, et lorsque la synthèse des enzymes dépend de gènes plasmidiques, elle est quasi nulle avec la plupart des céphalosporinases d'origine chromosomique.

On peut quantifier l'effet inhibiteur en utilisant la valeur 1/50 qui est la concentration en $\mu\text{g/ml}$ d'inhibiteur donnant 50 % d'inhibition de la bêta-lactamase en présence de bêta-lactamine (**tableau IX**).

Tableau IX : Inhibition des bêta-lactamases par l'acide clavulanique (37)

Bêta-lactamases			Acide clavulanique
Localisation du gène bla	Activité enzymatique prépondérante	Souche/plasmide producteur	Inhibition I-50 $\mu\text{g/ml}$
Plasmide	Pase	III TEM	+ 0,080 Pe
	Case		
	Pase	V OXA	+
	Case	Va PSE-4	+ 0,1 Pe
Chromosome	Pase	III <i>K. aerogenes</i>	+ 0,03 Pe
	Case	III <i>P. mirabilis</i> C889	+ 0,03 Pe
		<i>S. aureus</i> Russel	+ 0,06 Pe
	Case	<i>E. coli</i> JT410	0,56 Ce
		Ia <i>E. cloacae</i> P99	0,10 Ce
		Id <i>P. aeruginosa</i>	0,160 Ce
		<i>B. fragilis</i>	+

Pase : Pénicillinase

Case : Céphalosporinase

Ce : en présence de céphalosporine

Pe : en présence de pénicilline

bla = bêta-lactamase

I-50 = inhibition 50 % en présence de pénicilline et de céphalosporine.

I.5.5.- Propriétés des inhibiteurs (50)

Dans un intérêt thérapeutique, les inhibiteurs doivent satisfaire aux exigences suivantes :

- 1°.- une bonne pénétration de la paroi bactérienne, particulièrement celle des bacilles à Gram négatif ;
- 2°.- une excellente affinité pour la bêta-lactamase ;
- 3°.- une inhibition rapide et irréversible ;
- 4°.- un passage de la bactérie d'un état de résistance à un état de sensibilité ;
- 5°.- une concentration inhibitrice faible, efficace (0,1 à 2 μ g/ml) ;
- 6°.- une activité anti-bactérienne propre n'est pas nécessaire ;
- 7°.- l'inhibiteur ne doit pas être un inducteur ;
- 8°.- une même pharmacocinétique que l'antibiotique, donc établir la proportion d'inhibiteur par rapport à la molécule d'antibiotique ;
- 9°.- un coût de l'antibiothérapie faible.

I.5.6.- Applications

L'utilisation de ces inhibiteurs dans la thérapeutique des maladies infectieuses est possible, seulement dans la mesure où l'antibiotique et l'inhibiteur ont une même pharmacocinétique, de manière à ce que les deux produits soient présents simultanément dans les différents compartiments de l'organisme et particulièrement au niveau du foyer infectieux (cas de l'Amoxicilline et de l'inhibiteur acide clavulanique).

Les inhibiteurs n'ont pas d'activité anti-bactérienne propre élevée (**tableau X**) raison pour laquelle on les associe avec d'autres antibiotiques efficaces mais pouvant être attaqués par les bêta-lactamases (**tableau XI**).

Différents types d'associations sont utilisées et on distingue (27, 60) :

- **les associations libres** où l'inhibiteur serait utilisé en association avec un autre produit (Aminopénicilline, Uréidopénicilline, carboxypénicilline, ...) en fonction du type d'enzyme ;
- **les associations fixes** où le produit est sous forme d'une seule molécule d'où une concentration fixe.

Exemple : AUGMENTIN[®] (Amoxicilline + acide clavulanique)
 TIMENTIN[®] (Ticarcilline + acide clavulanique)
 UNASYN[®] (Ampicilline + sulbactam).

Tableau X : CMI des inhibiteurs sur différentes espèces (27)

SOUCHES	Acide clavulanique	Sulbactam	Tazobactam (YTR 830)
Entérobactéries	≥ 16	≥ 32	> 64
<i>P. aeruginosa</i>	> 128	> 128	> 128
<i>N. gonorrhoeae</i>	5,6	1	2
<i>S. aureus</i>	16	≥ 32	32
<i>Acinetobacter</i>	4-16	1-16	4-32
<i>Haemophilus</i>	32	32	64

Tableau XI : CMI ($\mu\text{g/ml}$) de l'Ampicilline associée à différents inhibiteurs ($4\mu\text{g/ml}$) (27)

SOUCHES	Ampi	Ampi + Ac	Ampi + Sul	Ampi + YTR
<i>S. aureus</i> Methi S.	≥ 32	<0,5	<0,5	<0,5
<i>B-catarrhalis</i>	> 32	<0,5	<0,5	<0,5
<i>H-influenzae</i> + <i>TEM-1</i>	≥ 64	<0,5	<0,5	<0,5
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>TEM-1</i>	≥ 32	<0,5	<0,5	<0,5

CHAPITRE II :

**LES SOUCHES BACTERIENNES
MULTIRESISTANTES**

II.1.- NOTION DE RESISTANCE

II.1.1.- Historique

Lorsque les antibiotiques ont été introduits pendant la seconde guerre mondiale, on croyait le problème des infections définitivement résolu.

En effet de grandes victoires furent remportées sur les infections grâce à l'important arsenal d'antibiotiques découverts à partir des années 1935-1940. Mais quelques temps après on s'est rendu compte qu'à côté des germes bactériens sensibles aux antibiotiques, il y avait d'autres qui leur étaient résistants.

Ainsi en 1950, après l'introduction de la pénicilline, 80 % des souches de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) isolées en milieu hospitalier étaient résistantes à cet antibiotique.

En 1959, l'Isloxazolyl pénicilline fut introduite pour pallier les imperfections de la Pénicilline, mais les staphylocoques opposèrent à cette arme la Méthi-Résistance par altération de la PBP de type 2.

En 1963, les bêta-lactamases à large spectre, médiées par un plasmide furent identifiées comme responsables de la résistance d'*E. coli* et d'autres Entérobactéries à l'Ampicilline.

Ainsi en 1971 furent introduites les céphalosporines de seconde génération dont la puissance fut limitée par la stratégie des bactéries de sécréter des céphalosporinases chromosomiques pour les attaquer. Et même l'introduction des céphalosporines de troisième génération en 1980 ne permit pas d'échapper à cette forme de résistance (14, 22, 30, 32, 66).

II.1.2.- Définition

La résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique est définie comme étant la capacité de cette souche de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhiberait la majorité des souches appartenant à la même espèce bactérienne (2).

Cette résistance bactérienne se manifeste sur le plan clinique par des échecs thérapeutiques. Elle est confirmée au laboratoire soit par l'augmentation brutale de la CMI soit par une diminution de la zone d'inhibition au niveau de l'antibiogramme.

La caractérisation d'une telle propriété peut se faire aussi par la détection d'une sécrétion enzymatique et par la description du support génétique de cette résistance.

II.2.- DIFFERENTS TYPES DE RESISTANCE

Il existe plusieurs types de résistance bactérienne aux antibiotiques : la résistance naturelle et la résistance acquise par mutation chromosomique ou plasmidique.

II.2.1.- La résistance naturelle (2, 20, 23, 53)

Elle correspond à l'insensibilité de la souche à l'antibiotique considérée quelle que soit la dose administrée.

Cette résistance est un caractère immuable présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce bactérienne, elle peut être utilisée comme un caractère taxonomique.

Les différents germes se montrent spontanément résistants vis-à-vis de tel ou tel antibiotique.

On peut citer les résistances naturelles des Entérobactéries et de certaines espèces de *Pseudomonas* aux macrolides, des bactéries à Gram négatif à la Pénicilline G, des streptocoques aux aminosides, des staphylocoques aux sulfamides, des *Proteus* à la Colistine et à la Polymyxine.

II.2.2.- La résistance acquise (13, 20, 53)

Dans certains cas, après un temps de traitement, une bactérie sensible peut devenir résistante par une élévation brutale de la CMI de l'antibiotique utilisé pour la détruire ; on dit qu'il y a résistance acquise de cette bactérie à l'antibiotique. Elle est dûe secondairement à une mutation ou à un transfert de résistance.

La résistance acquise 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.

Dans certains cas, un nombre de souches est résistant alors que d'autres sont sensibles, cas d'*Escherichia coli* dont 30 à 60 % des souches sont résistantes aux Tétracyclines.

II.3.- DIFFERENTS MECANISMES DE LA RESISTANCE BACTERIENNE

Les bactéries sont résistantes par acquisition d'un matériel génétique de résistance chromosomique ou plasmidique. Il existe aussi différents mécanismes biochimiques qui permettent à la bactérie de résister aux antibiotiques ; mais l'expérience montre que certains de ces mécanismes sont beaucoup plus fréquemment rencontrés que d'autres.

II.3.1.- Mécanisme génétique

Deux modifications génotypiques sont responsables de l'apparition de la résistance aux antibiotiques : les mutations et la résistance codée par des plasmides. Ceci permet de distinguer la résistance chromosomique de la résistance plasmidique.

II.3.1.1.- La résistance chromosomique

Elle survient à la suite d'une ou de plusieurs mutations. Une mutation est une modification rare, spontanée ou induite par des agents mutagènes pouvant affecter un certain nombre de caractères bactériens. Le DNA chromosomique est le support du code génétique. Il contient l'ensemble des informations nécessaires à la synthèse protéique et représente le patrimoine héréditaire de la cellule.

Cette mutation peut être une addition, une délétion ou une substitution de gènes ayant pour conséquence une erreur dans la lecture du code génétique.

Différents niveaux de résistance peuvent être décrits. On distingue (2, 53) :

- la résistance à un échelon, touchant un seul locus exemple de *Escherichia coli* vis-à-vis de la Streptomycine. La bactérie peut donc acquérir d'emblée un haut niveau de résistance par cette mutation à un échelon ou "*one step mutation*" ;
- la résistance à échelons multiples mettant en jeu des mutations à plusieurs loci. Dans ce cas, les bactéries n'accèdent à un niveau élevé de résistance qu'après une exposition répétée à l'antibiotique ; car chaque mutation isolée ne confère à la bactérie qu'un niveau de résistance faible ou modérée - cas de la résistance de type Pénicillinique ou "*multiple step mutation*".

La mutation engendre une résistance pour un ensemble d'antibiotiques de même famille. Ainsi la résistance d'un germe à deux antibiotiques différents nécessite deux mutations indépendantes, sur deux loci distincts portés par le même chromosome.

II.3.1.2.- La résistance plasmidique

Les plasmides sont constitués par de petites molécules d'ADN extrachromosomiques, situées dans le cytoplasme bactérien et capable de se diviser indépendamment du noyau. Ce sont des facteurs de résistance pour les antibiotiques et une même bactérie peut en héberger plusieurs, identiques ou différents.

Il existe deux types de plasmides (16, 19) :

- **les plasmides conjugatifs** : auto-transmissibles ; ils ont une masse moléculaire supérieure à 30 Mégadalton (Md) encore appelés plasmides F ou facteurs sexuels ;
- **les plasmides non conjugatifs** ayant une masse moléculaire comprise entre 0,5 et 50 Md. Ils codent pour les enzymes nécessaires à la conjugaison.

Les plasmides peuvent coder pour de très nombreuses fonctions : (2, 21, 38)

- **transfert chromosomique** : cas des plasmides F ;
- **résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds** : cas des plasmides R. (les plus étudiés).

Deux propriétés des plasmides sont de la plus grande importance du point de vue de leurs conséquences médicales : (2)

- la plupart des plasmides codent pour plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes. Par exemple, le plasmide R.55 code pour la résistance à l'ampicilline, la carbénicilline, le chloramphénicol, la kanamycine, la sisomycine et les sulfamides ;
- la majorité des plasmides de bactéries à Gram négatif et quelques plasmides de bactéries à Gram positif peuvent se transférer d'une bactérie à l'autre, par contact entre cellules ; c'est la conjugaison bactérienne (45).

Les plasmides peuvent être aussi transmis par transduction bactériologique. Les plasmides capables de réaliser leur transfert à une bactérie dépourvue de plasmides sont appelés des "*plasmides auto-transférables*".

Le transfert par conjugaison des plasmides R est sous le contrôle de gènes plasmidiques spécifiques. Les plasmides non transférables peuvent être soit des mutants *tra-* d'un plasmide *tra+*, soit des plasmides entièrement dépourvus de l'opéron *tra*.

Les gènes de résistance de nombreux plasmides sont insérés de part et d'autre par de courtes séquences de DNA appelées "*séquences d'insertion*". Et l'ensemble des gènes de résistance et de ces séquences d'insertion est appelé un "*transposon*", codant pour la résistance à un ou plusieurs antibiotiques (15).

L'analyse du DNA et les études enzymatiques ont démontré que les bêta-lactamases des souches de *H. influenzae* et de *N. gonorrhoeae* résistantes à la pénicilline G et à l'ampicilline sont très proches ou identiques à la bêta-lactamase de type "TEM" de *E. coli*. L'introduction d'un transposon appelé "TnA" est responsable de l'apparition récente de la résistance aux bêta-lactamines dans ces deux espèces.

Les bêta-lactamases plasmidiques sont médiatrices de la résistance, non seulement aux pénicillines, mais aussi à certaines céphalosporines de 3ème génération dont le Céfotaxime chez les espèces habituellement sensibles à ces agents.

Compte tenu du déterminisme génétique et des constantes cinétiques de ces enzymes, deux dénominations peuvent exister pour désigner la même bêta-lactamase mutée comme CTX-1 et TEM-3, CAZ-1 et TEM-5, CAZ et TEM-6 (48).

II.3.2.- Mécanisme biochimique de la résistance

Pour qu'un antibiotique soit actif sur une bactérie, il faut qu'il puisse à la fois pénétrer à travers la membrane externe (dans le cas des bactéries à Gram négatif) et le peptidoglycane, traverser l'espace périplasmique sans être inactivé et trouver une molécule cible.

Les différents mécanismes biochimiques permettant à une bactérie de résister à l'action des antibiotiques sont nombreux, mais l'expérience montre que certains de ces mécanismes sont beaucoup plus fréquemment rencontrés que d'autres : (2, 5, 20, 24)

- 1°.- Diminution ou perte de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique ;
- 2°.- Modification du site d'action ;
- 3°.- Modification et inactivation de l'antibiotique par des enzymes bactériennes;

4°.-Développement d'une autre voie métabolique suppléant la voie métabolique inhibée par l'antibiotique.

La particularité de ce dernier mécanisme de résistance est la présence, dans la même bactérie, de deux enzymes catalysant la même réaction (isoenzymes ou alloenzymes), l'une sensible et l'autre résistante à l'antibiotique. La cellule bactérienne devient donc diploïde (possédant deux informations génétiques) pour le même caractère.

II.3.2.1.- Diminution ou perte de la perméabilité de la paroi bactérienne à l'antibiotique

La connaissance de la structure de la paroi bactérienne permet de comprendre le mécanisme d'action des bêta-lactamines et, par la suite, tous les mécanismes de résistance des bactéries à ces antibiotiques.

< = > La paroi bactérienne et son rôle dans la résistance (figures 5 & 6) (3)

La structure de la paroi est différente selon qu'il s'agisse de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Cependant, dans les deux cas, le peptidoglycane ou muréine en est le constituant commun.

La paroi des bactéries à Gram négatif est constituée de l'extérieur vers l'intérieur, d'une membrane externe, d'une couche de peptidoglycane, d'un espace périplasmique et de la membrane cytoplasmique.

La membrane externe, absente chez les bactéries à Gram positif, est un élément très important de la physiologie des bacilles à Gram négatif. Elle agit en tant que barrière de perméabilité en protégeant les bactéries contre certains antibiotiques non diffusibles donc actifs seulement sur les germes à Gram positif : acide fusidique, Novobiocine, Macrolides. Cette membrane représente aussi un frein à la pénétration des antibiotiques diffusibles. Elle peut être considérée comme une membrane globalement hydrophobe (due à la présence des phospholipides et du lipide A du LPS) entourée par une couche hydrophile constituée par les chaînes oligosaccharidiques répétitives du LPS.

Différents antibiotiques tels que les bêta-lactamines considérées comme des molécules hydrophiles, diffusent au travers des protéines spécialisées, les porines qui forment de véritables canaux aqueux.

Cette membrane externe explique l'imperméabilité naturelle des Entérobactéries à l'égard de la pénicilline qui est hydrophobe.

Elle est séparée de la membrane cytoplasmique par le peptidoglycane et l'espace périplasmique.

Le peptidoglycane est un polymère composé de chaînes linéaires de N-acétyl-D-glucosamine et d'acide N-acétyl muramique reliées par de courtes chaînes de tétrapeptides. Sa synthèse nécessite l'intervention de trois enzymes :

- **la transglycosylase** qui va assurer la formation des chaînes polysaccharidiques ;
- **la transpeptidase** qui va unir les différentes chaînes polysaccharidiques entre elles ;
- **la carboxypeptidase** jouant un rôle dans la régulation de la synthèse.

La résistance aux bêta-lactamines par modification de la perméabilité a été démontrée pour de nombreuses entérobactéries et les premières études ont été faites sur *Salmonella typhimurium* et *E. coli*. (67)

Le niveau de résistance pour les différents mutants dépend des propriétés de diffusibilité propres de l'antibiotique ainsi que de l'espèce en cause.

Chez *E. coli* par exemple, la perte de la porine OmpC ne s'accompagne pas de modification de la CMI, témoignant du passage préférentiel des bêta-lactamines à travers la porine OmpF restante dont le diamètre est légèrement plus grand que celui de la porine OmpC.

Les germes à Gram positif admettent deux mécanismes de résistance : modification des protéines cibles et sécrétion de bêta-lactamases, tandis que celles à Gram négatif admettent en plus un troisième mécanisme qui est la diminution ou l'absence de porine.

La résistance par imperméabilité de la paroi peut être due soit : (56)

- 1°.- à une absence d'électrons de transport, cas de la résistance de certaines souches de streptocoques aux aminosides ;
- 2°.- à l'intervention de facteurs spécifiques de la paroi tels que la présence de capsule polysaccharidique ;
- 3°.- à des facteurs propres aux antibiotiques, à savoir :
 - . leur hydrophilie (facteur favorisant leur passage à travers les porines) ou leur hydrophobie,
 - . leur masse moléculaire,
 - . leur structure et leur charge.

Par exemple: une souche avec une membrane riche en polysaccharides peut se révéler hautement résistante pour des produits hydrophobes.
- 4°.- à la présence de porine, à leur taille et à leur nombre. Notons l'existence de 5 types de porines (OmpC, OmpF, Lan S, Pho E et Porine K) ;
- 5°.- à une production d'enzymes se liant aux antibiotiques et diminuant ainsi leur transport.

Le mécanisme d'action des bêta-lactamines est lié aux propriétés biochimiques et structurales de chaque molécule. Ainsi, en fonction de leur structure, les antibiotiques traversent plus ou moins bien la paroi bactérienne. (9)

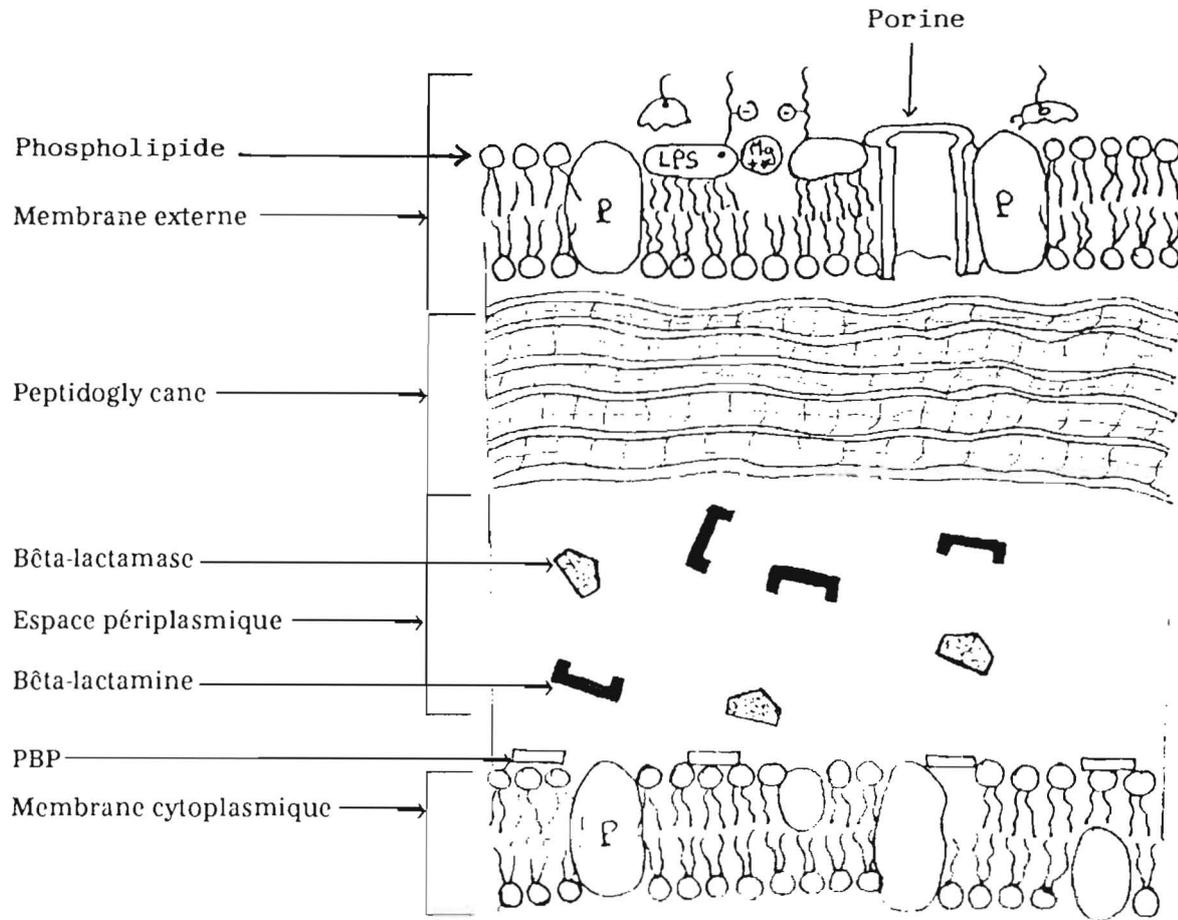


FIGURE 5 : STRUCTURE DE LA PAROI DES BACILLES A GRAM NEGATIF AVEC INTRODUCTION DE BETA-LACTAMINES

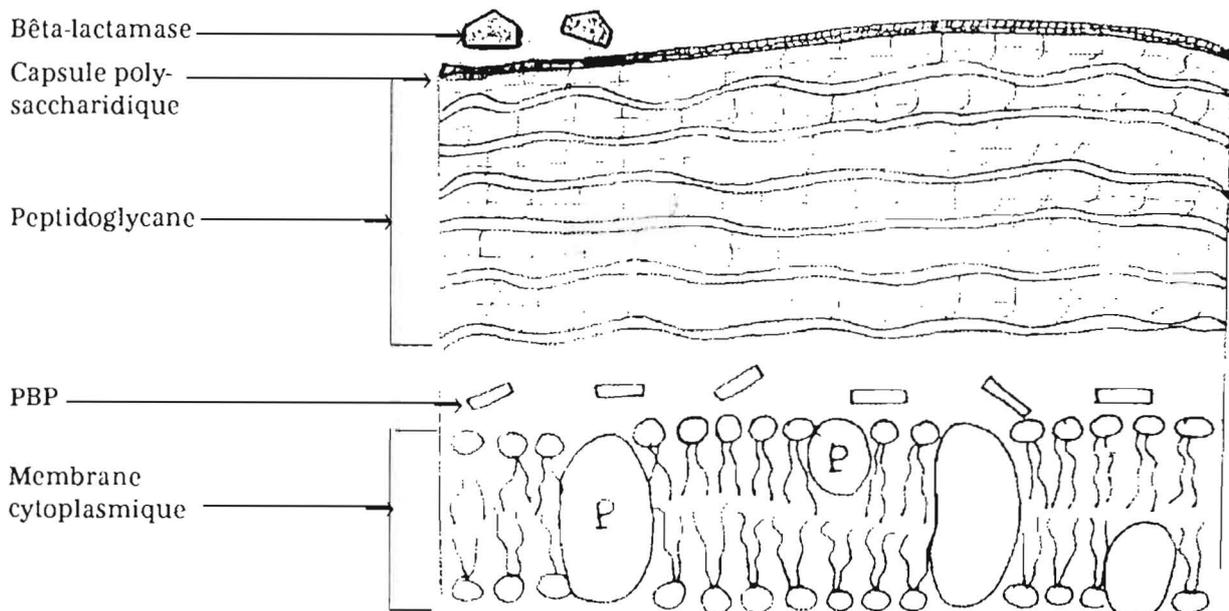


FIGURE 6 : STRUCTURE DE LA PAROI DES COCCI A GRAM POSITIF

PBP : "Pénicillin - Binding - Proteins"

- Les antibiotiques monoanioniques tels que la Céfalotine, la Céfalozone, la Céfopérazone, la Ceftriaxone, la Céfuroxime, la Céfoxitine, la Ceftizoxime, la Pipéracilline, la Mezlocilline, ont un passage qui est fonction des radicaux qu'ils portent.
- Dans le cas des antibiotiques comme l'Ampicilline, la Céfalexine, le Céfclor et l'Imipénem, il existe une bonne pénétration au niveau des porines due à la grande hydrophilie corrélée par la présence d'une charge positive et d'une charge négative.
- Les céphalosporines de 1ère génération traversent très bien les porines alors que celles de 3ème génération, du fait de l'adjonction de radicaux, sont de plus faible perméabilité.

La résistance par imperméabilité n'affecte donc que les bactéries à Gram négatif - cas de *Pseudomonas aeruginosa* dont la plupart des porines est close.

II.3.2.2.-Modification du site d'action : les PLP (67)

Les **PLP** (Protéines de Liaison des Pénicillines) ou **PBP** (Penicillin-Binding-Proteins) sont des polypeptides mis en évidence par électrophorèse sur gel de polyacrylamide et ayant un poids moléculaire de 40.000 à 120.000 daltons. Leur nombre est fonction de l'espèce : 6 à 8 pour les entérobactéries, 3 pour *Neisseria gonorrhoeae*.

L'affinité des PLP aux bêta-lactamines est variable, et la fixation d'une bêta-lactamine sur une PLP sera responsable d'un effet antibactérien particulier.

Chez les bactéries à Gram positif n'ayant pas de membrane externe et en l'absence de bêta-lactamase, l'acquisition de la résistance aux bêta-lactamines est toujours liée à des modifications d'une ou de plusieurs PLP.

Ce mécanisme de résistance est surtout rencontré chez les bactéries à Gram positif.

Exemple : La résistance des streptocoques aux céphalosporines de 3ème génération serait due à une altération des PLP. Quatre (4) types d'altérations des PLP ont été retrouvés dans différentes bactéries à Gram positif (**tableau XII**).

Tableau XII : Résistance liée à des modifications des protéines de liaison à la Pénicilline chez les bactéries à Gram positif (67)

MODIFICATION	ESPECES
Diminution d'affinité pour les bêta-lactamines	<i>C. perfringens</i> <i>S. pyogenes</i>
Augmentation de la quantité d'une PLP essentielle	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>
Perte d'une PLP	<i>E. faecium</i>
Acquisition d'une nouvelle PLP	<i>S. aureus</i>

Chez les bactéries à Gram négatif, le mécanisme de résistance est complexe et une résistance due exclusivement à l'altération des PLP est rare. Mais il a été identifié *in vitro* chez *N. gonorrhoeae*, et *in vivo* à partir de souches cliniques de *P. aeruginosa* et d'*Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*).

Le mécanisme de résistance par altération de la PBP est gouverné par des gènes présents dans les plasmides et les transposons (56).

II.3.2.3.- Mécanisme enzymatique de la résistance bactérienne (2)

La résistance enzymatique par sécrétion de bêta-lactamases est beaucoup plus fréquentes mais d'autres enzymes peuvent intervenir. Presque dans toutes les familles d'antibiotiques, nous retrouvons des enzymes capables de les inactiver.

== > Les Aminoglycosides

La résistance à cette famille d'antibiotiques peut être une résistance naturelle mais le plus souvent, elle est liée à la présence de plasmides de résistance codant pour la synthèse de trois classes d'enzymes inactivantes :

- . **Les Acétyltransférases** qui transfèrent un radical acétyl sur les groupements amines (-NH₂) des Aminosides, cibles de ces enzymes, et les aminosides qui portent un groupement -NH₂ sur un site commun d'un cycle seront inactivés par la même enzyme. Par exemple l'aminoglycoside-acétyl transférase (6') de *S. aureus* inactive la Gentamicine, la Tobramycine, la Sisomycine, la Kanamycine, l'Amikacine (qui portent un -NH₂ en position 6').
- . **Les aminoglycoside-adényltransférases** qui fixent un radical adényl sur les groupements -OH.
- . **Les aminoglycoside-phosphorylases** qui inactivent les aminoglycosides par phosphorylation des radicaux -OH.

== > Le chloramphénicol

Plusieurs mécanismes de résistance au chloramphénicol ont été décrits, mais il est plus fréquemment inactivé par acétylation des deux radicaux par une chloramphénicol-acétyltransférase (CAT) isolée chez les entérobactéries, staphylocoques, streptocoques, *Haemophilus* (figure 8).

== > Les macrolides

La résistance plasmidique aux macrolides, qu'elle soit inductible ou constitutive, est la conséquence de l'action d'une méthylase responsable de l'altération du RNA ribosomal 23S (déméthylation d'une adénine).

== > Les tétracyclines

Aucune enzyme inactivant ou modifiant la tétracycline n'a pu être mise en évidence chez les bactéries résistantes.

== > Les bêta-lactamines

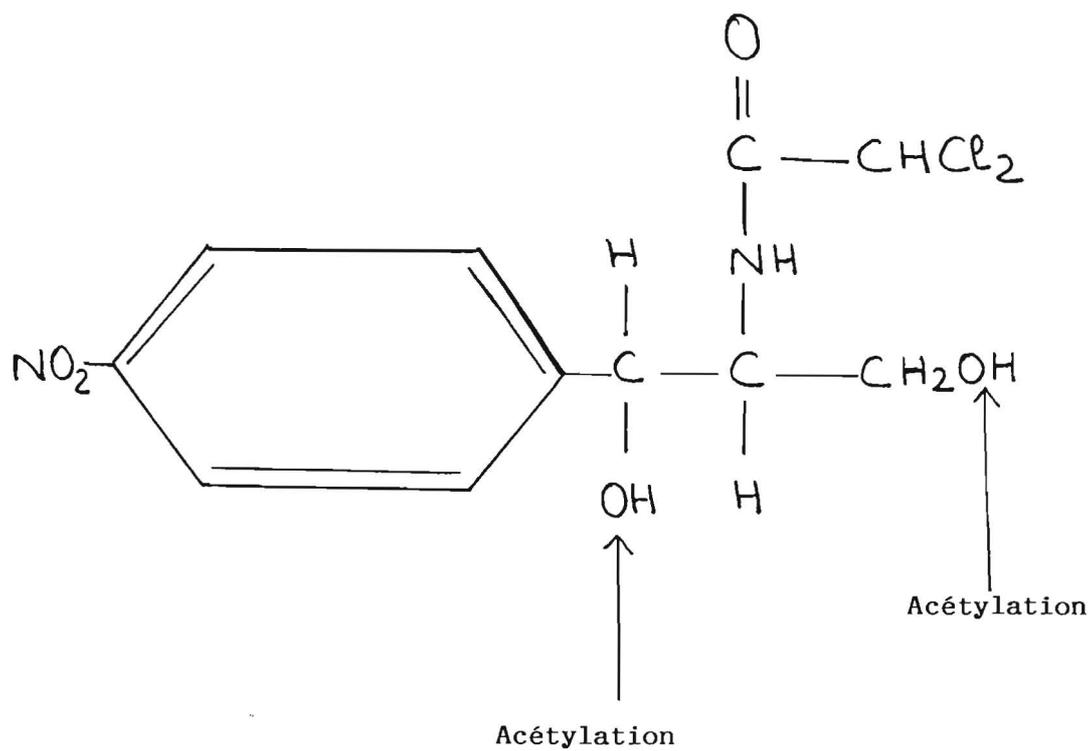
La résistance d'origine enzymatique par sécrétion de bêta-lactamases est beaucoup plus fréquente mais il existe d'autres enzymes d'incidence faible par rapport aux bêta-lactamases : les amidases et les estérases.

- . **Les amidases** : elles coupent la chaîne latérale en libérant soit l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA), soit l'acide 7-aminocéphalosporanique (7-ACA) tous deux inactifs.
- . **Les estérases** : elles hydrolysent la chaîne latérale des céphalosporines, mais sont inactives sur les pénicillines.
- . **Les bêta-lactamases** : ces enzymes hydrolysent les bêta-lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame et production de dérivés inactifs (2, 20).

Les gènes codant pour la production de bêta-lactamase peuvent être localisés soit sur le chromosome, soit sur un plasmide R.

Les bêta-lactamases de *S. aureus* sont inductibles et essentiellement extracellulaires, mais on peut avoir des mutants constitutifs. Quant à celles des bactéries à Gram négatif, elles sont habituellement constitutives et intracellulaires.

Figure 8 : Inactivation enzymatique du chloramphénicol par la CAT





DEUXIEME PARTIE

TRAVAIL PERSONNEL



CHAPITRE I :

CADRE DE L'ETUDE - HOPITAL ARISTIDE LE DANTEC

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

CHAPITRE II :

MATERIEL ET METHODES

II.1.- SOUCHES BACTERIENNES

Notre étude a porté sur 174 souches bactériennes et nous avons retenu les souches présentant une résistance à un ou plusieurs antibiotiques de la famille des bêta-lactamines. Au départ nous avons testé les souches sécrétant une bêta-lactamase à spectre étroit par la méthode chromogénique ou méthode à la céfinase et que ce test soit positif ou négatif nous avons retenu ces souches en vue de les tester par d'autres méthodes.

Nous avons testé aussi bien les cocci que les bacilles répartis comme suit (tableau XIII) :

- 20 *Staphylococcus aureus* avec :
 - . 10 Méthi S
 - . 10 Méthi R ;
- 11 *Staphylococcus epidermidis* ;
- 25 Streptocoques dont 13 Entérocoques et 12 autres (streptocoques A et B)
- 25 *Klebsiella*, dont 3 *Kl. oxytoca* , 21 *Kl. pneumoniae* et 1 *Kl. ozaenae* ;
- 18 *Enterobacter* dont 16 *E. cloacae*, 1 *E. gergoviae* et 1 *E. agglomerans* ;
- 11 *Proteus* dont 8 *P. mirabilis*, 2 *P. rettgeri* et 1 *P. vulgaris* ;
- 19 *Escherichia coli* ;
- 10 *Pseudomonas aeruginosa* ;
- 11 *Salmonella* dont 9 *S. typhi* et 2 *S. spp* ;
- 12 *Shigella* dont 7 *S. flexneri*, 4 *S. dysenteriae* et 1 *S. sonnei* ;
- 10 *Haemophilus influenzae b* ;
- 2 *Haemophilus influenzae non b*.

Tableau XIII : Identification et effectif des souches bactériennes

GENRE	ESPECE	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus méthi-S</i>	10	5,75
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus méthi-R</i>	10	5,75
<i>Staphylococcus</i>	<i>epidermidis</i>	11	6,32
<i>Streptococcus</i>	du groupe A	10	5,75
<i>Streptococcus</i>	du groupe B	2	1,15
<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>	12	6,89
<i>Enteroccus</i>	<i>durans</i>	1	0,57
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	16	9,20
<i>Enterobacter</i>	<i>agglomerans</i>	1	0,57
<i>Enterobacter</i>	<i>gergoviae</i>	1	0,57
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	10	5,75
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	21	12,07
<i>Klebsiella</i>	<i>oxytoca</i>	3	1,72
<i>Klebsiella</i>	<i>ozaenae</i>	1	0,57
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	19	10,92
<i>Salmonella</i>	<i>typhi</i>	9	5,17
<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>	2	1,15
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i>	4	2,30
<i>Shigella</i>	<i>flexneri</i>	7	4,02
<i>Shigella</i>	<i>sonnei</i>	1	0,57
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	8	4,60
<i>Proteus</i>	<i>rettgeri</i>	2	1,15
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	1	0,57
<i>Haemophilus</i>	<i>influenzae b</i>	10	5,75
<i>Haemophilus</i>	<i>influenzae non b</i>	2	1,15

Ces souches proviennent de produits pathologiques divers, à savoir les selles, sang, LCR, pus, urines et sphère ORL (**tableau XIV**).

Elles ont surtout été isolées entre 1992 et 1994 mais quelques-unes datent de 1991. Leur conservation s'effectue dans deux (2) tubes : l'un contenant du PBS + du glycérol et l'autre de l'EP + glycérol à -20°C et à -70°C.

Tableau XIV : Répartition du nombre de souches bactériennes en fonction de la nature du produit pathologique

Souches bactériennes	Nombre	Selles	Sang	LCR	Pus	Urines	Sphère ORL
<i>S. aureus</i>	20	-	2	-	15	3	-
<i>S. epidermidis</i>	11	-	5	-	1	5	-
<i>Streptocoques</i>	25	-	-	-	23	2	-
<i>Klebsiella</i>	25	-	10	-	-	3	12
<i>Enterobacter</i>	18	-	13	1	3	1	-
<i>Proteus</i>	11	1	-	-	4	2	4
<i>E. coli</i>	19	2	5	-	1	1	10
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	-	-	-	1	7	2
<i>Salmonella</i>	11	2	9	-	-	-	-
<i>Shigella</i>	12	12	-	-	-	-	-
<i>H. influenzae</i>	12	-	-	9	2	-	1
TOTAL	174	17	44	10	50	24	29

II.2.- MATERIEL ET REACTIFS

II.2.1.- Identification des souches bactériennes

Pour l'identification des souches, nous avons utilisé le schéma habituel.

Nous avons d'abord procédé à la culture des germes sur bouillon ordinaire et sur gélose ordinaire ou enrichie, puis à l'ensemencement des milieux classiques des galeries d'identification ou des milieux spécifiques des germes en question.

II.2.2.- Détection des bêta-lactamases

II.2.2.1.- Méthodes à la "céfinase" (BioMérieux)

*** Réactifs :**

- Disque de nitrocéfine,
- Eau physiologique.

*** Matériel :**

- Lames,
- Pipettes Pasteur.

II.2.2.2.- Méthode acidimétrique

*** Réactifs :**

- Rouge de Phénol à 0,5% ,
- Eau distillée,
- Substrat ou Antibiotique,
- NaOH 1N,
- Tampon citrate pH 5,6.

*** Matériel :**

- pH mètre,
- Tubes à hémolyse,
- Flacon à usage unique,
- Micropipettes,
- Embouts.

II.2.2.3.- Méthode iodimétrique*** Réactifs :**

- Substrat,
- Tampon phosphate pH 6,8
- Solution d'amidon,
- Lugol (Iode + iodure de K).

*** Matériel :**

- Tubes à hémolyse,
- Micropipettes,
- Embouts.

II.2.2.4.- Méthode de recherche des BLSE*** Réactifs :**

- Milieu Mueller Hinton (MH),
- Eau physiologique.

*** Matériel :**

- Boîtes de pétri (contenant le MH).

II.2.2.5.- Le test bêta-lactamase (Diagnostics Pasteur)

*** Réactifs :**

- Poudre déshydratée de la CSP chromogène Padac (Pyridine 2 azodiméthyl-aniline CSP),
- Tampon phosphate pH7.

*** Matériel :**

- Pipette Pasteur.

II.2.3.- Exploitation des résultats

*** Matériel :**

- Ordinateur Macintosh.

II.3.- METHODES

II.3.1.- Méthode de détection des bêta-lactamases par les substrats

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour la détection des bêta-lactamases selon qu'il s'agisse de bêta-lactamases de cocci ou de bacilles.

- Les méthodes chromogéniques telles que
*la méthode à la "Céfinase" ou
le test bêta-lactamase (Padac);*
- L'acidimétrie ;
- et enfin l'iodimétrie.

Parmi les substrats utilisés seule la Benzyl pénicilline ou Pénicilline G sera limitée au cocci, en raison de l'étroitesse de son spectre antibactérien, pour la détection de souches sécrétrices de pénicillinases.

II.3.1.1.- Méthodes de détection des bêta-lactamases

a)- Détection des bêta-lactamases par l'acidimétrie

* **Principe** : Il est basé sur la détection de l'acide libéré par clivage du noyau bêta-lactame du substrat antibiotique par la bêta-lactamase.

Cet acide provoque un virage de l'indicateur de pH pouvant être le rouge de phénol ou le pourpre de bromocrésol (63).

* **Technique** (57)

- Ajouter 2 ml d'une solution de rouge de phénol à 0,5 % à 16,6 ml d'eau distillée stérile ;
- mettre le mélange dans une ampoule contenant $20 \cdot 10^6$ unités de Pénicilline G injectable contenant du tampon citrate ;
- verser la solution obtenue dans un tube à essai et ajouter goutte à goutte du NaOH 1M jusqu'à l'obtention d'un pH 8,5 visualisé par la coloration violette ou en mesurant à l'aide d'un pH mètre.
La solution peut être conservée à -60°C jusqu'au moment de l'emploi ; ne pas l'utiliser si elle vire au jaune ;
- placer 0,05 à 0,1 ml de cette solution dans un puits de microdilution ou dans un tube à hémolyse ;
- préparer une suspension dense de colonies à partir d'une culture pure de germes, la densité de l'inoculum sera comparable à l'échelle **Mac Farland 4**.

b)- Détection des bêta-lactamases par l'iodimétrie

* **Principe** : Il repose sur la combinaison de l'acide provenant de l'attaque de la Pénicilline G (substrat antibiotique) avec l'iode d'un complexe Lugol amidon.

En présence de bêta-lactamase, l'amidon reste libre donc incolore et en l'absence d'attaque de la Pénicilline, l'amidon se combine avec l'iode et donne une coloration bleue (63) (**figure n°9**).

* **Technique** (57)

- Pour préparer le substrat, dissoudre la Pénicilline G dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 6,0) pour avoir une concentration de 6 mg/l ;
- ajouter 1 g d'amidon dans 100 ml d'eau distillée, mettre dans un bain marie jusqu'à la dissolution ;
- préparer la solution de Lugol en dissolvant 2,03 g d'iode et 53,2 g d'iodure de potassium (KI) dans un petit volume d'eau distillée, puis compléter à 100 ml, conserver dans un flacon de verre coloré ;
- déposer 0,1 ml de la solution de Pénicilline G dans un puits d'une plaque de microdilution ou dans des tubes à hémolyse, et ajouter 2 gouttes de solution d'amidon et une goutte de Lugol ;
- mélanger cette solution à une suspension de germes. Si la souche produit une bêta-lactamase, on obtient une décoloration en 10 mn.

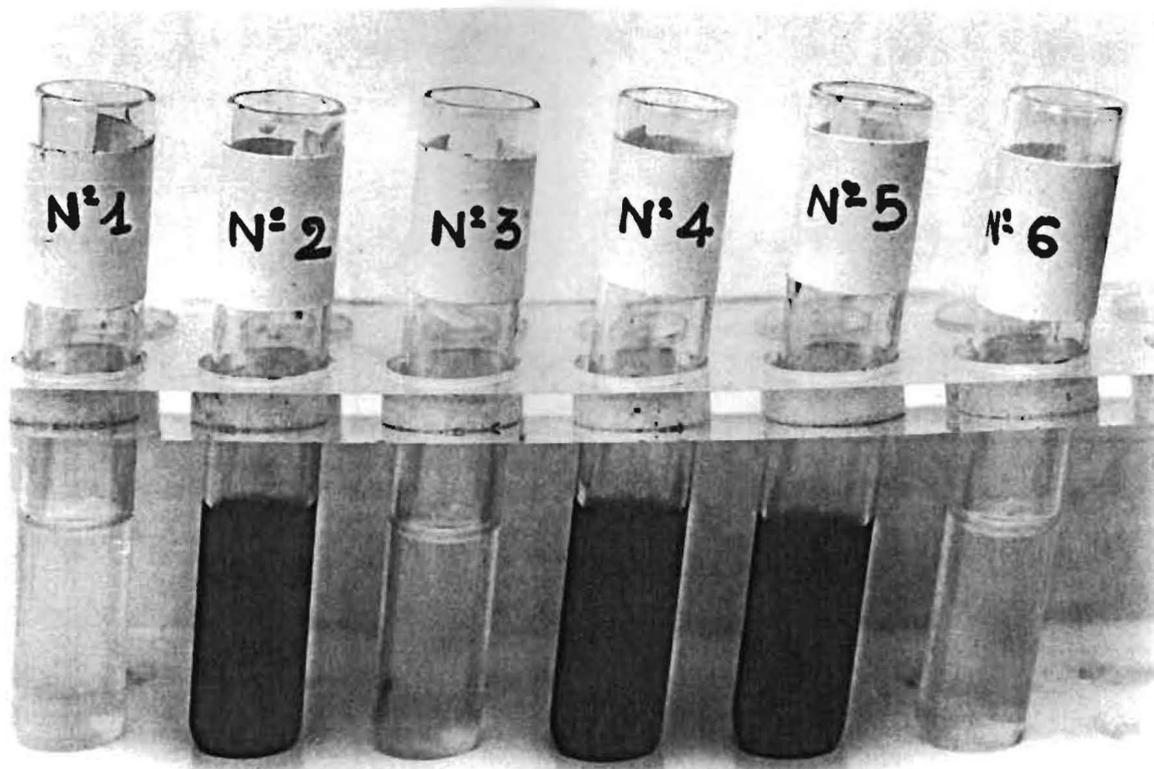


Figure 9 : Iodimétrie

Tube n°1 : Témoin positif = souche productrice de bêta-lactamase

Tubes n°3 & n°6 : SAMS sécrétant une bêta-lactamase

Tubes n° 2, 4, 5 : SAMS ne sécrétant pas de bêta-lactamase.

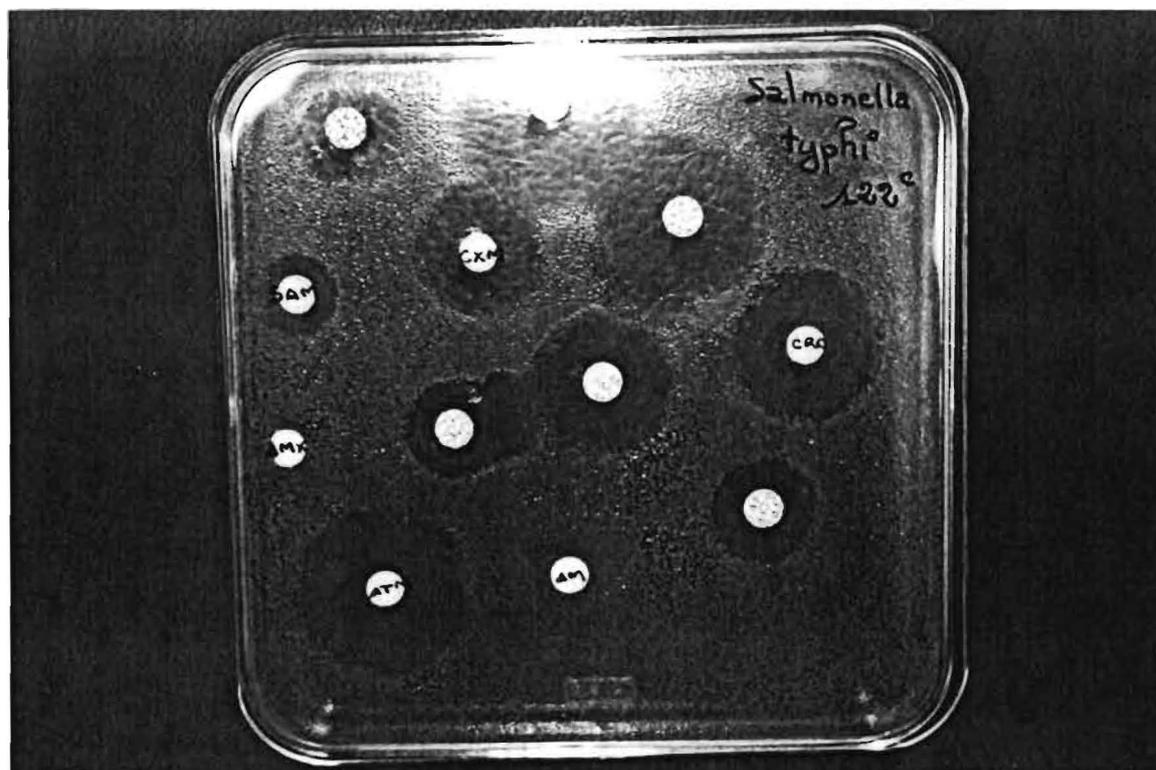


Figure 10 : Image de synergie entre les disques : AMC et CTX
 AMC et CRO
 AMC et CZ

c)- Méthode à la "Céfinase"

* **Principe** : C'est une méthode chromogénique. Le principe repose sur le changement de couleur de certaines céphalosporines (Nitrocéfine et Padac) en solution aqueuse lorsque les liaisons bêta-lactam sont rompues par l'action des bêta-lactamases (62).

* **Technique** :

On utilise des disques imprégnés à la Nitrocéfine + BCP (disque de céfinase).

Ces disques sont imbibés d'eau physiologique, puis on y dépose une anse de colonie grâce à une pipette Pasteur.

Si la souche produit une bêta-lactamase, le disque se colore en rouge.

C'est une méthode très sensible pouvant même détecter d'autres enzymes n'intervenant pas dans la résistance bactérienne.

II.3.1.2.- Méthode de détection des bêta-lactamases à spectre élargi : le test de synergie

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) sont des enzymes découvertes récemment (1983 en Allemagne chez *Klebsiella pneumoniae* (*Kl. pneumoniae*), *E. coli* en 1984 en Tunisie et en 1985 en France).

Elles ont été identifiées d'abord chez *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* et d'autres entérobactéries (48).

Leur recherche est surtout effectuée chez les entérobactéries. La détection est possible par un test de synergie entre un inhibiteur de bêta-lactamase et une bêta-lactamine non hydrolysable par les pénicillinases connues (type TEM par exemple). Comme bêta-lactamine, on utilise en général les céphalosporines de 3ème génération.

La technique utilisée est apparentée à un antibiogramme, par la méthode de diffusion en gélose Mueller Hinton (diagnostics Pasteur).

Cette recherche peut aussi être effectuée chez les cocci à Gram positif (41).

Après avoir ensemencé la gélose en nappe grâce à un bouillon de la culture de germes dans de l'eau physiologique, on aspire l'excès et on dépose les disques.

La présomption d'existence d'une BLSE a pour base la simple observation sur l'antibiogramme d'une synergie très marquée entre au moins deux (2) disques mis côte à côte à 3 cm de distance (de centre à centre) (**figure n°10**).

Les céphalosporines que nous avons à tester sont :

- la ceftazidime (CAZ),
- la ceftriaxone (CRO),
- la céfopérazone (CFP),
- la céfuroxime (CMX) (2ème génération),
- la céfazoline (CZ) (1ère génération).

Comme inhibiteurs, on peut utiliser le sulbactam, l'acide clavulanique, l'Aztréonam.

II.3.2.- Critères de classification des bêta-lactamases

Nous avons classé les bêta-lactamases en haut et bas niveau de résistance (**tableau XV**).

Tableau XV : Critères de classification des bêta-lactamases en fonction des substrats (9, 29, 65)

		Péni G	AM	AMC	Céfinase	CSP I	CSP III
Pénicillinase	HN	+	+	+	±	+	-
	BN	+	+	-	±	-	±
Céphalosporinase	HN	±	±	-	+	+	+
	BN	±	+	+	±	+	-

+ : Actif

- : Inactif

CSP I : Céphalosporines de 1ère génération

CSP III : Céphalosporines de 3ème génération

II.3.3.- Exploitation des résultats

Nous avons calculé les pourcentages de positivité des tests effectués chez les souches bactériennes selon les substrats antibiotiques.

Pour tester la plus ou moins grande dépendance entre deux tests, nous avons procédé au calcul du coefficient de corrélation (r) qui doit rester proche de zéro en cas d'indépendance de deux variables (ici deux tests). Il est défini comme l'indice mesurant le degré de liaison entre deux variables. Pour tester la validité des tests utilisés, on détermine le khi-deux (X^2) calculé à 95% d'intervalle de confiance avec des nombres de degrés de liberté (d.d.l.) variables.

Le X^2 obtenu est calculé avec le risque d'erreur $\alpha = 5\%$ donné par la table pour le nombre de d.d.l. $(l-1) (c-1)$.

Si X^2 calculé est inférieur au X^2 lu sur la table, nous pouvons dire que la différence entre les deux n'est pas significative.

La plus-value peut être définie comme la probabilité pour que le risque d'erreur *alpha* soit vraie.

CHAPITRE III :
RESULTATS

III.1.- PROFIL DE RESISTANCE DES SOUCHES BACTERIENNES

III.1.1.- Chez les cocci à Gram positif

Tableau XVI : Profil de résistance (en pourcentage) des cocci à Gram positif

Antibiotiques Espèces bactériennes	PENI G	AM	AMX	AMC	CZ	CRO	CTX
SAMS N = 10	60	80	70	80	40	30	90
SAMR N = 10	30	20	0	20	60	50	40
<i>S. épidermidis</i> N = 11	63,64	54,55	0	54,55	63,64	63,64	45,46
<i>Strepto. A</i> N = 10	0	0	0	0	0	0	0
<i>Strepto. B</i> N = 2	0	0	0	0	50	0	0
<i>E. faecalis</i> N = 12	25	16,67	8,33	16,67	50	33,33	41,67
<i>E. durans</i> N = 1	0	0	0	0	0	100	0
TOTAL N = 56	33,93	32,14	14,29	32,14	46,43	35,71	41,07

Parmi les antibiotiques utilisés pour tester la résistance chez ces germes Gram positif, les céphalosporines donnent des taux plus élevés (**tableau XVI**) par rapport aux pénicillines dont le maximum de résistance a été observé chez les souches de staphylocoques.

Tableau XX : Fréquence de détection des bêta-lactamases chez les bacilles à Gram négatif

Espèces bactériennes	N	Bêta-lactamases	
		n	%
<i>E. cloacae</i>	16	16	100
<i>E. agglomerans</i>	1	1	100
<i>E. gergoviae</i>	1	1	100
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	9	90
<i>Kl. pneumoniae</i>	21	18	85,71
<i>Kl. oxytoca</i>	3	3	100
<i>Kl. ozaenae</i>	1	1	100
<i>E. coli</i>	19	14	73,68
<i>S. typhi</i>	9	3	33,33
<i>S. spp</i>	2	1	50
<i>Sh. dysenteriae</i>	4	3	75
<i>Sh. flexneri</i>	7	7	100
<i>Sh. sonnei</i>	1	1	100
<i>P. mirabilis</i>	8	8	100
<i>P. rettgeri</i>	2	2	100
<i>P. vulgaris</i>	1	1	100
<i>H. influenzae b</i>	10	1	10
<i>H. influenzae non b</i>	2	0	0

III.2.3.- Analyse des résultats de la détection des bêta-lactamases par la technique iodimétrique et selon les substrats

III.2.3.1.- Chez les cocci à Gram positif

= = > Les substrats antibiotiques

Dans le cas de notre étude, les Staphylocoques ont un taux de positivité élevé vis-à-vis des bêta-lactamines testées par la technique iodimétrique. Cette dernière est très sensible pour la détection des bêta-lactamases.

Ce taux est élevé chez les streptocoques, mais l'AMX, l'Oxacilline (OXA), la Cloxacilline (CLOXA) et la Ceftriaxone (CRO) sont très actifs sur les deux souches de Streptocoques du groupe B testées (**tableau XXI**).

Dans l'ensemble, nous avons constaté un pourcentage élevé de positivité des cocci vis-à-vis de la Pénicilline G et de l'AMC (80,36 % chacun), de la Céfotaxime (CTX) (76,79 %), de l'Ampicilline-Sulbactam ou UNASYN (SAM) (69,64 %) et de l'AM (73,21 %) (**tableau XXII**).

Tableau XXII : Résultat global de la détection des bêta-lactamases par la technique iodimétrique et selon les substrats antibiotiques chez les cocci

Substrats Souches bactériennes		PENI G	AM	AMX	AMC	OXA	CLO- XA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
Staphyloco- ques N=31	n	23	29	19	29	22	22	18	18	24	22	29
	%	74,19	93,55	61,29	93,55	70,97	70,97	58,06	58,06	77,42	70,97	93,55
Streptoco- ques N=25	n	22	12	18	16	5	13	15	10	19	17	8
	%	88	48	72	64	20	52	60	40	76	68	32
Total de cocci N= 56	n	45	41	37	45	27	35	33	28	43	39	37
	%	80,36	73,21	66,07	80,36	48,21	62,50	58,93	50	76,79	69,64	66,07

== > L'Ethylène Diamine Tétracétate (E.D.T.A.)

L'EDTA testé sur les souches de staphylocoques permet de détecter des taux élevés de bêta-lactamases. Par contre, une seule souche d'*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) et deux de *Streptococcus A* (*Strepto.A*) sont positives avec ce complexon (tableau XXIII). Ce dernier joue le rôle d'inhibiteur chimique.

Tableau XXIII : Détection des bêta-lactamases par l'iodimétrie chez les cocci testés par l'EDTA

Souches bactériennes	N	E.D.T.A.	
		n	% de positivité
SAMS	10	9	90
SAMR	10	8	80
<i>Staph. epiderm.</i>	11	10	90,91
<i>Strepto. A</i>	10	2	20
<i>Strepto. B</i>	2	0	0
<i>E. faecalis</i>	12	1	8,33
<i>E. durans</i>	1	0	0

III.2.3.2.- Chez les bacilles à Gram négatif

== > Substrats antibiotiques

Les substrats bêta-lactamines utilisés pour la détection des bêta-lactamases sont faiblement actifs sur les souches d'Entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Haemophilus influenzae*.

Toutefois, chez certaines souches, aucune bêta-lactamase n'a pu être détectée. C'est le cas de la souche d'*E. agglomerans* vis-à-vis de l'Ampi-Sulbactam et de l'Aztréonam (0 %). Il en est de même avec d'autres souches (**tableau XXIV**).

Ainsi, l'association Amoxicilline-Acide clavulanique est très active sur la souche de *Shigella sonnei* et sur les deux souches d'*H. influenzae non b*.

Le taux de bêta-lactamases détectées par la méthode iodimétrique est maximal avec l'AMC (83,05 %) (**tableau XXV**).

Ce taux est élevé pour l'ensemble des bacilles à Gram négatif et selon les substrats testés.

== > L'Ethylène Diamine Tétracétate (E.D.T.A.)

Nous avons détecté des taux élevés de bêta-lactamases chez les souches de *Salmonella* et *Shigella* testées par l'EDTA selon la méthode iodimétrique.

Cependant, parmi les espèces d'*Enterobacter*, une seule lui est négatif ; il s'agit d'*E. cloacae* (**tableau XXVI**).

Tableau XXIV : Pourcentage de détection des bêta-lactamases par la technique iodimétrique chez les bacilles à Gram négatif

Substrats Espèces bactériennes	AM	AMX	AMC	OXA	CLO- XA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
<i>E. cloacae</i> N = 16	81,25	81,25	87,5	31,25	100	75	75	87,5	75	31,25
<i>E. agglomerans</i> N = 1	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
<i>E. gergoviae</i> N = 1	0	100	100	0	100	100	100	100	100	0
<i>Ps. aeruginosa</i> N = 10	50	80	100	90	70	70	30	70	30	100
<i>Kl. pneumoniae</i> N = 21	76,19	66,67	100	85,11	76,19	23,81	80,95	85,71	71,43	66,67
<i>Kl. oxytoca</i> N = 3	100	66,67	100	66,67	100	33,33	66,67	66,67	100	66,67
<i>Kl. ozaenae</i> N = 1	100	0	100	100	0	0	100	100	100	0
<i>E. coli</i> N = 19	63,16	63,16	100	100	21,05	47,37	31,58	94,74	47,37	94,74
<i>S. typhi</i> N = 9	33,33	100	66,67	77,78	66,67	66,67	77,78	100	66,67	44,44
<i>S. spp</i> N = 2	100	100	100	50	100	0	50	100	100	50
<i>Sh. dysenteriae</i> N = 4	50	50	50	0	75	100	50	75	50	50
<i>Sh. flexneri</i> N = 7	42,86	85,71	85,71	42,86	100	71,43	57,14	100	42,86	42,86
<i>Sh. sonnei</i> N = 1	100	100	0	0	100	100	0	100	0	100
<i>P. mirabilis</i> N = 8	75	100	100	50	62,5	87,5	87,5	87,5	37,5	37,5
<i>P. rettgeri</i> N = 2	100	100	100	100	50	62,5	87,5	87,5	37,5	37,5
<i>P. vulgaris</i> N = 1	100	100	100	100	0	100	0	100	100	0
<i>H. influenzae b.</i> N = 10	30	80	10	80	10	10	0	10	80	90
<i>H. influenzae non b.</i> N = 2	0	100	0	100	50	0	50	0	100	0

Tableau XXV : Pourcentage global de détection des bêta-lactamases par la technique iodimétrique et selon les substrats chez les bacilles à Gram négatif

Substrats	AM	AMX	AMC	OXA	CLO- XA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
<i>Enterobacter</i> N = 18	77,78	83,33	88,83	33,33	100	77,78	77,78	88,88	72,22	27,78
<i>Pseudomonas</i> N = 10	50	80	100	90	70	70	30	70	30	100
<i>Klebsiella</i> N = 25	80	64	100	84	76	24	80	84	76	64
<i>E. coli</i> N = 19	63,16	63,16	100	100	21,05	47,37	31,58	94,74	47,37	94,74
<i>Salmonella</i> N = 11	45,45	100	72,73	72,73	72,73	54,55	72,73	100	45,45	54,55
<i>Shigella</i> N = 12	50	75	66,67	25	91,67	83,33	50	91,67	41,67	50
<i>Proteus</i> N = 11	81,82	100	100	63,64	54,55	90,91	72,73	90,91	54,54	27,27
<i>H. influenzae</i> N = 12	25	83,33	8,33	83,33	16,67	8,33	8,33	8,33	83,33	75
Total des bacilles	62,7	77,96	83,05	70,34	63,56	53,39	55,93	80,51	61,86	77,12

Tableau XXVI : Résultats de la détection des bêta-lactamases par iodimétrie chez les bacilles testés par l'EDTA

Espèces bactériennes	N	E.D.T.A.	
		n	% de positivité
<i>E. cloacae</i>	16	15	93,75
<i>E. agglomerans</i>	1	1	100
<i>E. gergoviae</i>	1	1	100
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	6	60
<i>Kl. pneumoniae</i>	21	15	71,43
<i>Kl. oxytoca</i>	3	2	66,67
<i>Kl. ozaenae</i>	1	1	100
<i>E. coli</i>	19	9	47,37
<i>S. typhi</i>	9	9	100
<i>S. spp</i>	2	2	100
<i>Sh. dysenteriae</i>	4	4	100
<i>Sh. flexneri</i>	7	7	100
<i>Sh. sonnei</i>	1	1	100
<i>P. mirabilis</i>	8	7	87,5
<i>P. rettgeri</i>	2	2	100
<i>P. vulgaris</i>	1	0	0
<i>H. influenzae b</i>	10	8	80
<i>H. influenzae non b</i>	2	2	100

Tableau XXVIII : Pourcentage global de détection des bêta-lactamases par la technique acidimétrique et selon les substrats

Substrats		PENI G	AM	AMX	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
Staphylocoques	n	14	2	1	20	22	7	6	31	0	16
N=31		45,16	6,54	3,22	64,52	70,96	22,58	19,35	100	0	51,61
Streptocoques	n	23	0	6	25	25	25	25	25	0	1
N=25	%	92	0	24	100	100	100	100	100	0	4
Total	n	37	2	7	45	47	32	31	56	0	17
N= 56	%	66,07	3,57	12,5	80,36	83,93	57,12	55,36	100	0	30,36

III.2.4.2.- *Chez les bacilles à Gram négatif*

De même, sur ces souches, aucune bêta-lactamase n'a été détectée avec l'Ampi-Sulbactam, par la méthode acidimétrique.

Cependant la CTX est inactive sur les germes à Gram négatif (100 % de bêta-lactamases détectées).

Seules les souches d'*H. influenzae*, de *Salmonella*, *Shigella* et une souche de *Klebsiella* sont positives avec l'ATM (tableau XXIX).

La détection de bêta-lactamase est maximale avec la CTX (100 %). Elle est suivie de la CLOXA (66,10 %), de l'OXA (55,93 %) (tableau XXX) pour l'ensemble des souches d'Entérobactéries de *Ps. aeruginosa* et d'*H. influenzae*.

Tableau XXIX : Pourcentage de détection des bêta-lactamases par la technique acidimétrique chez les bacilles à Gram négatif

Substrats Espèces bactériennes	N	AM	AMX	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
<i>E. cloacae</i>	16	25	31,25	43,75	100	100	40	100	0	0
<i>E. agglomerans</i>	1	0	0	0	100	0	0	100	0	0
<i>E. gergoviae</i>	1	100	0	0	100	100	0	100	0	0
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	20	0	30	20	80	10	100	0	0
<i>Kl. pneumoniae</i>	21	57,14	14,29	66,67	42,86	42,86	23,81	100	0	0
<i>Kl. oxytoca</i>	3	33,33	33,33	66,67	100	66,67	33,33	100	0	33,33
<i>Kl. ozaenae</i>	1	100	0	0	0	100	0	100	0	0
<i>E. coli</i>	19	26,32	0	63,16	36,84	73,68	78,95	100	0	0
<i>S. typhi</i>	9	11,11	44,44	100	77,78	11,11	22,22	100	0	44,44
<i>S. spp</i>	2	0	50	100	100	0	0	100	0	50
<i>Sh. dysenteriae</i>	4	0	0	50	100	100	25	100	0	0
<i>Sh. flexneri</i>	7	14,29	14,29	100	100	71,43	14,29	100	0	71,43
<i>Sh. sonnei</i>	1	0	0	100	100	100	100	100	0	100
<i>P. mirabilis</i>	8	0	0	50	50	0	0	100	0	0
<i>P. rettgeri</i>	2	50	0	100	100	50	0	100	0	0
<i>P. vulgaris</i>	1	0	0	100	0	0	0	100	0	0
<i>H. influenzae b</i>	10	0	0	0	100	0	0	100	0	100
<i>H. influenzae non b</i>	2	0	0	0	100	0	0	100	0	100

Tableau XXX : Pourcentage global de détection des bêta-lactamases par la méthode acidimétrique chez les bacilles à Gram négatif

Espèces bactériennes	Substrats	AM	AMX	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
<i>Enterobacter</i> N = 18		27,78	27,78	38,89	100	94,44	33,33	100	0	0
<i>Pseudomonas</i> N = 10		20	0	30	20	80	10	100	0	0
<i>Klebsiella</i> N = 25		56	16	64	48	48	24	100	0	4
<i>E. coli</i> N = 19		26,32	0	63,16	28	73,68	78,95	100	0	0
<i>Salmonella</i> N = 11		9,09	45,45	100	81,82	9,09	27,27	100	0	45,45
<i>Shigella</i> N = 12		8,33	8,33	83,33	100	83,33	16,67	100	0	50
<i>Proteus</i> N = 11		9,09	0	63,67	54,55	9,09	0	100	0	0
<i>H. influenzae</i> N = 12		0	0	0	10	0	0	10	0	100
Total des bacilles N = 118		24,58	12,71	55,93	66,10	53,39	27,97	100	0	10,17

III.2.5.- Etude comparée de deux (2) méthodes (taux de corrélation)

III.2.5.1.-Corrélation acidimétrie et iodimétrie (tableau XXXI)

La fréquence de détection des bêta-lactamases est plus élevée avec l'iodimétrie que l'acidimétrie chez les cocci et les bacilles vis-à-vis des substrats tels que la Pénicilline G, l'AM, l'AMX et l'ATM. Pour la Pénicilline G et l'AM, les X^2 sont faibles et la probabilité pour que le risque d'erreur $\alpha = 5\%$ soit vrai est faible, donc la différence entre ces deux tests n'est pas significative. Les valeurs des deux tests sont donc superposables.

Quant à l'AMX et l'ATM, les X^2 sont élevés et les plus-values (p) sont faibles; donc la différence est statistiquement significative. Il apparaît que la détection des bêta-lactamases soit mieux réalisée par l'iodimétrie aussi bien chez les

cocci que les bacilles. Ce test paraît plus sensible dans la détection de bêta-lactamases.

Des études statistiques nous ont permis d'affirmer que la corrélation entre ces deux tests est bonne.

Par contre, pour les substrats comme la CTX, l'OXA, la Cloxacilline, la fréquence de détection des bêta-lactamases est plus élevée avec l'acidimétrie que l'iodimétrie chez les cocci. Pour ces substrats, les valeurs de la plus-value sont faibles et les X^2 élevés ; donc la différence est statistiquement significative. L'acidimétrie paraît plus sensible que l'iodimétrie.

Pour la Céfazoline, les résultats sont superposables, et pour les deux méthodes le taux de détection de bêta-lactamases est le même (53,39 %) chez les bacilles.

Pour l'Ampisulbactam, aucune bêta-lactamase n'a été détectée par la méthode acidimétrique, pourtant nous notons un taux élevé pour l'iodimétrie. Le X^2 et la plus-value étant faibles, la différence n'est pas significative statistiquement.

D'après ces résultats, nous pouvons affirmer que la sensibilité des tests dépend du substrat utilisé, mais l'iodimétrie paraît plus sensible.

Dans l'ensemble, les valeurs du coefficient de corrélation sont proches de 0; donc la corrélation entre ces deux tests est bonne.

III.2.5.2.- Corrélation céfinase et iodimétrie (tableau XXXII)

Chez les cocci, les taux de bêta-lactamases détectées par l'iodimétrie selon les substrats tels que la Péni G, l'AM, l'AMC et la CTX sont plus élevés que le taux obtenu par le test à la Céfinase (tableau XXXII).

Pour la Péni G et la CTX, la différence n'est pas statistiquement significative ; donc les résultats sont superposables.

Par contre pour l'AMC, l'AM, les X^2 sont très élevés et les probabilités pour que le risque $\alpha = 5 \%$ soit vrai sont très faibles. Donc la différence entre ces deux tests est statistiquement significative et l'iodimétrie paraît plus sensible que le test à la Céfinase.

Le test à la Céfinase paraît plus sensible que l'iodimétrie avec les substrats comme la CLOXA, la CZ et la CRO, dans la détection des bêta-lactamases. Les coefficients de corrélation étant proches de 0, nous pouvons affirmer que la corrélation entre l'iodimétrie et la Céfinase est bonne.

III.2.5.3.- Corrélation Céfinase et acidimétrie (tableau XXXIII)

- Chez les cocci, le pourcentage de bêta-lactamases détectées par le test acidimétrique est plus élevé pour l'OXA (80,36 %), la CLOXA (83,93 %) que celui obtenu par la Céfinase (69,64 %).
- Pour l'OXA, le X^2 et la plus-value sont élevés donc cette différence peut ne pas être réellement significative.

Nous constatons aussi que la corrélation est mauvaise car la valeur absolue du coefficient de corrélation est très élevée.

Pour l'AMX, la CLOXA, la CZ, la CRO, la SAM, les X^2 et les plus-values sont faibles, donc la différence n'est pas statistiquement significative. La corrélation entre la Céfinase et l'acidimétrie est bonne sauf pour le substrat OXA.

Tableau XXXI : Corrélation Acidimétrie et iodimétrie

Méthodes	Substrats	P O U R C E N T A G E D E P O S I T I V I T E										
		Péni G	AM	AMX	AMC	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM
IODIMETRIE	Cocci N= 56	80,36	73,21	66,07	80,36	48,21	62,50	58,93	50	76,79	69,64	66,07
	Bacilles N= 118	-	62,7	77,96	83,05	70,34	63,56	53,39	55,93	80,51	61,86	77,12
ACIDIMETRIE	Cocci N = 56	66,07	3,57	12,5	-	80,36	83,93	57,12	55,36	100	0	30,36
	Bacilles N = 118	-	24,58	12,71	-	55,93	66,10	53,39	27,97	100	0	10,17
Corrélation iodimétrie & acidimétrie	r	0,12	-0,48	0,185	-	0,153	0,211	-0,176	0,035	-	-0,057	-0,195
	X ²	0,794	0,396	6,109	-	4,127	8,044	5,503	0,205	-	0,552	6,764
	p	0,3769	0,5298	0,0144	-	0,0438	0,0051	0,0201	0,6516	-	0,4585	0,0101

Tableau XXXII : Corrélation Céfinase et Iodimétrie

Substrats		I	O	D	I	M	E	T	R	I	E	CEFINASE	
Souches bactériennes		Péni G	AM	AMX	AMC	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM	NITROCEPHIN
Cocci	N = 56	80,36	73,21	66,07	80,36	48,21	62,50	58,93	50	76,79	69,64	66,07	69,64
Bacilles	N = 118	-	62,7	77,96	83,05	70,34	63,56	53,39	55,93	80,51	61,86	77,12	76,14
Corrélation	r	0,025	0,248	0,034	0,079	0,1	0,18	0,154	0,218	0,105	0,07	-0,27	
Céfinase &	X ²	0,035	11,253	0,201	46,4	1,725	5,771	4,199	8,575	1,905	0,008	0,129	
Iodimétrie	p	0,8524	0,001	0,6547	0,0001	0,1908	0,0174	0,042	0,0039	0,1693	0,9287	0,7197	

Tableau XXXIII : Corrélation Céfinase et Acidimétrie

Substrats		I	O	D	I	M	E	T	R	I	E	CEFINASE
Souches bactériennes		Péni G	AM	AMX	OXA	CLOXA	CZ	CRO	CTX	SAM	ATM	NITROCEPHIN
Cocci N = 56		66,07	3,57	12,5	80,36	83,93	57,12	55,36	100	0	30,36	69,64
Bacilles N = 118		-	24,58	12,71	55,93	66,10	53,39	27,97	100	0	10,17	76,27
Corrélation	r	-0,195	-0,182	0,119	-4,634E-4	-0,122	-0,069	0,14	-	-0,46	0,224	
Céfinase &	X ²	2,132	5,877	2,474	3,709E-5	2,594	0,827	3,42	-	0,369	9,099	
Iodimétrie	p	0,1501	0,0164	0,1176	0,9951	0,1091	0,3644	0,0661	-	0,5445	0,0029	

III.2.6.- Recherche de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE)

Parmi les bacilles Gram à négatif testés par l'antibiogramme standard pour la recherche de BLSE, 4 espèces bactériennes ont été identifiées comme en possédant.

Il s'agit de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae*.

Sur les 25 souches de *Klebsiella* testées, 4 produisent une BLSE :

- Deux souches de *Kl. pneumoniae* présentent un même type de synergie entre l'association Amoxicilline-Acide clavulanique (AMC) et la Céfazoline (CZ) et la Céfopérazone (CFP).
- Une souche présente une image de synergie entre l'AMC et la CFP.
- Chez une autre souche, l'image de synergie a été observée entre l'AMC et la CFP et la Ceftriaxone (CRO) et la Céfotaxime (CTX).

Chez *Salmonella*, nous avons détecté une seule BLSE et l'image de synergie est observée entre l'AMC et la CTX et la CRO et la Céfuroxime (CXM) ; l'espèce en question est *S. typhi*.

De même une seule souche de *Proteus rettgeri* sur les deux testées présente une synergie entre l'ATM et l'AM.

Enfin une synergie entre l'AMC et la CZ et l'Amoxicilline (AMX) a été observée chez une souche de *Shigella dysenteriae*.

Parmi les 98 souches testées pour la détection de BLSE, 7 ont été identifiées comme sécrétrices, soit un taux de 7,14 % (**tableau XXXIV**).

Le profil de ces souches aux différentes bêta-lactamines est mentionné dans le **tableau XXXV**.

Tableau XXXIV : Bêta-lactamase à spectre élargi : répartition chez les Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*

Souches bactériennes	N	B L S E	
		n	%
<i>E. cloacae</i>	16	-	-
<i>E. agglomerans</i>	1	-	-
<i>E. gergoviae</i>	1	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	-	-
<i>Kl. pneumoniae</i>	21	4	19,05
<i>Kl. oxytoca</i>	3	-	-
<i>Kl. ozaenae</i>	1	-	-
<i>E. coli</i>	19	-	-
<i>S. typhi</i>	9	1	11,11
<i>S. spp</i>	2	-	-
<i>Sh. dysenteriae</i>	4	1	25
<i>P. mirabilis</i>	8	-	-
<i>P. rettgeri</i>	2	1	50
<i>P. vulgaris</i>	1	-	-
TOTAL	98	7	7,14

Tableau XXXV : Résultat de l'antibiogramme standard chez les souches productrices de BLSE : nombre de résistance et de sensibilité

Souches bactériennes		AMC	CRO	CTX	CFP	CAZ	CMX	CZ	ATM	SAM	AM
Klebsiella pneumoniae n = 4	R	1	0	0	0	0	0	2	0	0	3
	S	0	3	3	0	1	3	0	4	4	1
	I	3	1	1	4	3	1	2	0	0	0
Proteus rettgeri n = 1	R	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1
	S	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	I	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
Salmonella typhi n = 1	R	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	S	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	I	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
Shigella dysenteriae n = 1	R	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
	S	0	1	1	1	1	-	1	-	-	0
	I	1	0	0	0	0	-	0	-	-	1

III.3.- ANALYSE DES PHENOTYPES DE BETA-LACTAMASES EN FONCTION DES SUBSTRATS

III.3.1.- Phénotypes de bêta-lactamases

Chez 74,14 % des souches étudiées, nous avons détecté des bêta-lactamases dont 24,80 % de céphalosporinases, 29,46 % de Pénicillinases et 45,74 % du phénotype P + C (tableau XXXVI).

III.3.1.1.- Chez les cocci à Gram positif (tableau XXXVII)

- **Les Céphalosporinases** : Elles ont été uniquement retrouvées chez le genre *Staphylococcus* plus particulièrement chez *S. aureus methi-R* et *S. epidermidis*.

- Quant au phénotype **Pénicillinase**, il a été retrouvé chez toutes les souches productrices de bêta-lactamases à l'exception de la seule espèce *E. durans*.

Tableau XXXVI : Répartition globale des phénotypes de bêta-lactamases

	Bêta- lactamases		Pénicil linases		Céphalos porinases		P + C	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Cocci N = 56	39	69,64	14	35,89	5	12,83	20	51,28
Bacilles N = 118	90	76,27	24	26,67	27	30	39	43,33
TOTAL N = 174	129	74,14	38	29,46	32	24,80	59	45,74

Tableau XXXVII : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases en fonction des substrats et selon les cocci à Gram positif

Espèces bactériennes	Bêta-lactamases	Pénicillinasés	Céphalosporinasés	P + C
SAMS N = 10	9	4	0	5
SAMR N = 10	9	4	3	2
<i>St. epi</i> N = 11	11	2	2	7
<i>Strepto. A</i> N = 10	2	1	0	1
<i>Strepto. B</i> N = 2	0	0	0	0
<i>E. faecalis</i> N = 12	7	3	0	4
<i>E. durans</i> N = 1	1	0	0	1

P = pénicillinase

C = céphalosporinase

- **Le phénotype Pénicillinase + Céphalosporinase** : Nous notons un nombre élevé de souches donnant des réactions positives croisées, dans la détection des deux types de bêta-lactamases, surtout chez les Staphylocoques (**tableau XXXVII**).

III.3.1.2.- Chez les bacilles à Gram négatif (**tableau XXXVIII**)

- Les céphalosporinases

Nous avons détecté des céphalosporinases avec une prévalence élevée chez les Shigelles (66,67 %), Klebsielles (40,90 %). (Nous avons respectivement 8 et 9 souches sécrétrices de céphalosporinases).

Cependant, chez certaines espèces, aucune céphalosporinase n'a été détectée.

- **Les pénicillinases** : 26,67 % des souches sont sécrétrices de pénicillinases avec une prévalence chez *Ps. aeruginosa* (55,56 %). Chez *Klebsiella*, ce taux est de 31,82 %.

- **Le phénotype Pénicillinase + Céphalosporinase** : Chez le genre Enterobacter, nous notons un nombre élevé de souches présentant ce phénotype (12 souches) parmi celles sécrétrices de bêta-lactamases ; soit un taux de 66,67 %.

Ce phénotype est retrouvé chez les souches de *Ps. aeruginosa* et d'Entérobactéries à l'exception de *Kl. oxytoca*, *E. gergoviae*, *Salmonella spp.* et *Sh. dysenteriae* (**tableau XXXVIII**).

Tableau XXXVIII : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases en fonction des substrats et selon les espèces à bacilles à Gram négatif

Espèces bactériennes	Bêta-lactamases	Pénicillinases	Céphalosporinases	P + C
<i>E. cloacae</i> N = 16	16	2	3	11
<i>E. agglom.</i> N = 1	1	0	0	1
<i>E. gergov.</i> N = 1	1	0	1	0
<i>Ps. aeru.</i> N = 10	9	5	1	3
<i>Kl. pneumo.</i> N = 21	18	5	8	5
<i>Kl. oxytoca</i> N = 3	3	2	1	0
<i>Kl. ozaenae</i> N = 1	1	0	0	1
<i>E. coli</i> N = 19	14	7	1	6
<i>S. typhi</i> N = 9	3	0	2	1
<i>S. spp.</i> N = 2	1	1	0	0
<i>S. dysent.</i> N = 4	3	0	3	0
<i>Sh. flexneri</i> N = 7	7	1	5	1
<i>Sh. sonnei</i> N = 1	1	0	0	1
<i>P. mirab.</i> N = 8	8	1	2	5
<i>P. rettgeri</i> N = 2	2	0	0	2
<i>P. vulgaris</i> N = 1	1	0	0	1
<i>H. infl. b</i> N = 10	1	0	0	1
<i>H. infl. non b.</i> N = 2	0	0	0	0

III.3.2.- Niveau de résistance des phénotypes de bêta-lactamases en fonction des substrats

Selon les critères de classification des phénotypes de bêta-lactamases (**tableau XV**), nous les avons séparés en "*haut niveau*" et "*bas niveau*" de résistance.

III.3.2.1.- Chez les cocci à Gram positif

Nous avons identifié les souches sécrétant une pénicillinase ou une céphalosporinase à haut ou bas niveau de résistance.

Les souches de *S. aureus Méti-S* présentent autant de Pénicillinases à haut niveau qu'à bas niveau (50 %).

Cependant, chez les souches de streptocoques, la pénicillinase est à bas niveau. Les souches de *S. aureus Méti-R* et de *S. epidermidis* sont sécrétrices de céphalosporinases à haut niveau et bas niveau (**tableau XXXIX**).

Tableau XXXIX : Répartition du niveau des phénotypes de bêta-lactamases en fonction des substrats chez les cocci à Gram positif

Espèces bactériennes	Pénicil linases			Céphalos porinases		
	n	HN	BN	n	HN	BN
SAMS N = 10	4	2	2	0	0	0
SAMR N = 10	4	3	1	3	1	2
<i>St. épi</i> N = 11	2	1	1	2	1	1
<i>Strepto.A</i> N = 10	1	0	1	0	0	0
<i>Strepto.B</i> N = 2	0	0	0	0	0	0
<i>E. faecalis</i> N = 12	3	0	3	0	0	0
<i>E. durans</i> N = 1	0	0	0	0	0	0

III.3.2.2.- Chez les bacilles à Gram négatif

Chez les souches d'Entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa*, la Pénicillinase ou la Céphalosporinase secrétée est surtout de haut niveau.

La Pénicillinase des souches de *P. mirabilis*, *Sh. flexneri* et *S. spp.* est de haut niveau, contrairement à celle de *E. cloacae* qui est à bas niveau.

Toutefois, la Céphalosporinase de cette dernière est de haut niveau. Quant aux souches de *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, la Céphalosporinase est à bas niveau (tableau XXXX).

Tableau XXXX : Répartition du niveau des phénotypes de bêta-lactamases en fonction des substrats chez les bacilles Gram négatif

Espèces bactériennes	Pénicil linases			Céphalos porinases		
	n	HN	BN	n	HN	BN
<i>E. cloacae</i> N = 16	2	0	2	3	3	0
<i>E. agglom.</i> N = 1	0	0	0	0	0	0
<i>E. gergov.</i> N = 1	0	0	0	1	1	0
<i>Ps. aeru.</i> N = 10	5	3	2	1	0	1
<i>Kl. pneumo.</i> N = 21	2	2	0	1	0	1
<i>Kl. oxytoca</i> N = 3	2	2	0	1	0	1
<i>Kl. ozaenae</i> N = 1	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> N = 19	7	4	3	1	0	1
<i>S. typhi</i> N = 9	0	0	0	2	2	0
<i>S. spp.</i> N = 2	1	1	0	0	0	0
<i>Sh. dysent.</i> N = 4	0	0	0	2	2	0
<i>Sh. flexneri</i> N = 7	1	1	0	0	0	0
<i>Sh. sonnei</i> N = 1	0	0	0	3	3	0
<i>P. mirab.</i> N = 8	1	1	0	5	4	1
<i>P. rettgeri</i> N = 2	0	0	0	0	0	0
<i>P. vulgaris</i> N = 1	0	0	0	0	0	0
<i>H. infl. b</i> N = 10	0	0	0	0	0	0
<i>H. infl. non b.</i> N = 2	0	0	0	0	0	0

n = nombre total de bêta-lactamases

N = nombre total de souches testées

III.4.- CORRELATION PHENOTYPES DE BETA-LACTAMASES SELON LE SUBSTRAT ET PHENOTYPES DE RESISTANCE A L'ANTIBIOGRAMME

Nous avons constaté que parmi les souches ayant le phénotype P + C selon les substrats, certaines présentent une sensibilité totale aux céphalosporines de 3ème génération, à l'antibiogramme.

Cependant, d'autres souches peuvent présenter une sensibilité intermédiaire aux Pénicillines ou Céphalosporines testées.

Des souches uniquement pénicillinase à bas niveau selon les substrats, sont devenues résistantes aux céphalosporines de 1ère et 3ème générations testées surtout la Céfotaxime et la Ceftazidime.

Des souches sécrétant une bêta-lactamase de type Céphalosporinase, détectée par les substrats peuvent présenter une sensibilité aux céphalosporines testées à l'antibiogramme.

Ceci peut s'expliquer par le fait que la technique de l'antibiogramme ne permet pas de détecter toutes les bêta-lactamases.

III.5.- ESSAI DE CLASSIFICATION DES TYPES DE BETA-LACTAMASES FREQUENTS

En tenant compte de la classification de RICHMOND et SYKES (**tableau IV**), de la nomenclature des différentes classifications des bêta-lactamases (**tableau V**) et de l'inhibition des bêta-lactamases par les inhibiteurs (**tableau XXXXI**), nous avons essayé de classer les différents phénotypes obtenus.

III.5.1.- Chez les cocci (tableau XXXXII)

Parmi les souches sécrétrices de pénicillinases ou céphalosporinases à bas niveau et/ou haut niveau, seulement 3 ont pu être typées.

Il s'agit :

- d'une souche de *S. aureus méti-S* sécrétrice de pénicillinase à bas niveau ;

- de deux souches de *S. aureus méti-R* : l'une présentant le phénotype pénicillinase à haut niveau et l'autre le phénotype céphalosporinase à bas niveau.

Elles sont toutes de type **Ia** encore appelé type TEM-1 (habituellement de type céphalosporinase, à médiation chromosomique, inductible).

Tableau XXXXI : Inhibition des bêta-lactamases par les inhibiteurs et action des CSP sur ces souches (58)

Bêta-lactamase type	SOUCHES	Cloxacilline	Acide Clavulanique	Sulbactam	Cefoperazone
Ia	<i>Pr. rettgeri</i>	+	ND	-	+
Id	<i>P. aeruginosa</i>	+	-	-	-
Ia	<i>E. cloacae</i>	+	-	-	-
Ia	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+
Ic	<i>P. vulgaris</i>	+	+	+	+
II	<i>E. coli</i>	+	+	-	-
IIb	<i>P. mirabilis</i>	+	+	+	-
III (TEM)	<i>E. coli</i>	+	+	+	-
III (TEM)	<i>Ps. aeruginosa</i>	-	+	-	ND
III (TEM)	<i>H. influenzae</i>	+	+	+	ND
III (SHV)	<i>Kl. pneumoniae</i>	-	+	+	ND
IV	<i>Kl. pneumoniae</i>	-	+	+	-
IV	<i>E. coli</i>	ND	ND	+	-
V (OXA-4)	<i>E. coli</i>	-	-	-	ND
V (PSE-4)	<i>Ps. aeruginosa</i>	-	+	+	ND

+ : inhibe

- : n'inhibe pas

ND = non déterminé

Tableau XXXXII : Essai de classification des types de bêta-lactamases fréquents chez les cocci à Gram positif

Souches bactériennes	Pénicillinases			Céphalosporinases			P + C		
	n	typables	non typables	n	typables	non typables	n'	typables	non typables
SAMS N = 10	HN=2 BN=2	0 1 (Ia)	2 1	HN=0 BN=0	- -	- -	5	0	5
SAMR N = 10	HN=3 BN=1	1 (Ia) 0	2 1	HN=1 BN=2	0 1 (Ia)	1 1	2	0	2
<i>St. epi</i> N = 11	HN=1 BN=1	0 0	1 1	HN=1 BN=1	0 0	1 1	7	0	7
<i>Strepto.A</i> N = 10	HN=0 BN=1	- 0	- 1	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1
<i>Strepto.B</i> N = 2	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	0	-	-
<i>E. faecalis</i> N = 12	HN=0 BN=3	- 0	- 3	HN=0 BN=0	- -	- -	4	0	4
<i>E. durans</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1

n = nombre de souches à haut ou bas niveau de pénicillinase et/ou céphalosporinase

n' = nombre total de souches présentant le phénotype P + C.

III.5.2.- Chez les bacilles (tableau XXXXIII)

Parmi les souches d'Entérobactéries de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Haemophilus influenzae* chez lesquelles nous avons détecté des bêta-lactamases, quelques espèces seulement ont pu être classées. Il s'agit des souches de :

- *Pseudomonas aeruginosa* avec :
 - . une souche sécrétant une pénicillinase à bas niveau. Cette dernière est de type **Id** ;
 - . deux souches de phénotype pénicillinase à haut niveau de type **III** ou TEM, encore appelé type OXA-2 selon MATTEW (tableau V) (9, 51) ;
 - . deux souches de phénotype P + C classé type **V** ou PSE-4 encore appelé type OXA.

- *Klebsiella pneumoniae* chez lesquelles nous avons identifiées deux types de bêta-lactamases chez les souches sécrétrices de pénicillinase à haut niveau et de céphalosporinase à bas niveau. Il s'agit des types **III** ou SHV et **IV** qui sont le plus souvent des céphalosporinases. Par contre pour le phénotype P + C, une seule bêta-lactamase de type **III** a été identifiée pour cette même espèce. C'est le cas de *Kl. oxytoca* de type Céphalosporinase à bas niveau.

- *E. coli* sécrétant les pénicillinases à haut et bas niveau et ayant le phénotype P + C. Des types **II** et **III** ont été déterminés et peuvent être appelés respectivement type OXA-1 et type OXA-2.

- *Salmonella* et *Shigella* où seules les bêta-lactamases de type TEM ont pu être identifiées.

- *Proteus mirabilis* et *P. rettgeri* où nous avons des bêta-lactamases de type **Ib** et **Ia** respectivement (tableau XXXXIII).

D'après cet essai de classification, une même espèce bactérienne peut être retrouvée dans différentes classes (tableau XXXIV).

Tableau XXXXIII : Essai de classification des types de bêta-lactamases fréquents chez les bacilles à Gram négatif

Souches bactériennes	Pénicillinasés			Céphalosporinasés			P + C		
	n	typables	non typables	n	typables	non typables	n'	typables	non typables
<i>E. cloacae</i> N = 16	HN=0 BN=2	- 0	- 2	HN=3 BN=0	0 -	3 -	11	3 (Ia)	8
<i>E. agglomerans</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1
<i>E. gergoviae</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=1 BN=0	1 (Ia) -	0 -	0	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i> N = 10	HN=3 BN=2	2 (III) 1 (Id)	1 1	HN=0 BN=1	- 0	- 1	3	2 (V)	1
<i>Kl. pneumoniae</i> N = 21	HN=4 BN=2	2 (III, IV) 0	2 2	HN=2 BN=6	0 2 (III, IV)	2 4	5	1 (III)	4
<i>Kl. oxytoca</i> N = 3	HN=2 BN=0	0 -	2 -	HN=0 BN=1	- 1 (III)	- 0	0	-	-
<i>Kl. ozaenae</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1
<i>E. coli</i> N = 19	HN=4 BN=3	1 (II) 2 (II)	3 1	HN=0 BN=1	- 0	- 1	6	3 (II, II, III)	3
<i>S. typhi</i> N = 9	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=2 BN=0	1 (TEM) -	1 -	1	1 (TEM)	0
<i>S. spp</i> N = 2	HN=1 BN=0	1 (TEM) -	0 -	HN=0 BN=0	- -	- -	0	-	-
<i>Sh. dys.</i> N = 4	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=3 BN=0	1 (TEM) -	2 -	0	-	-
<i>Sh. flexn.</i> N = 7	HN=1 BN=0	0 -	1 -	HN=4 BN=1	0 1 (TEM)	4 0	1	1 (TEM)	0
<i>Sh. sonnei</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	1 (TEM)	0
<i>P. mirabilis</i> N = 8	HN=1 BN=0	1 (IIb) -	0 -	HN=0 BN=0	- -	- -	5	2 (IIb)	3
<i>P. rettgeri</i> N = 2	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	2	1 (Ia)	1

Tableau XXXXIII : Essai de classification des types de bêta-lactamases fréquents chez les bacilles à Gram négatif
(suite)

Souches bactériennes	Pénicillinases			Céphalosporinases			P + C		
	n	typables	non typables	n	typables	non typables	n'	typables	non typables
<i>P. vulgaris</i> N = 1	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1
<i>H. influenzae b</i> N = 10	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	1	0	1
<i>H. influenzae non b</i> N = 2	HN=0 BN=0	- -	- -	HN=0 BN=0	- -	- -	0	-	-

BN = bas niveau

HN = haut niveau

Tableau XXXIV : Tableau récapitulatif des différents types de bêta-lactamases fréquents obtenus à partir de notre étude

Type	Phénotype	Souches bactériennes correspondantes
I a	Pase	<i>S. aureus méti-S, S. aureus méti-R</i>
	Case	<i>E. gergoviae, S. aureus méthi-R</i>
	P + C	<i>E. cloacae, P. rettgeri</i>
I d	Pase	<i>P. aeruginosa</i>
II	Pase	<i>E. coli</i>
	P + C	<i>E. coli</i>
II b	Pase	<i>P. mirabilis</i>
	P + C	<i>P. mirabilis</i>
III	Pase	<i>Ps. aeruginosa, Kl. pneumoniae</i>
	Case	<i>Kl. pneumoniae, Kl. oxytoca</i>
	P + C	<i>Kl. pneumoniae, E. coli</i>
IV	Case Pase	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
V	P + C	<i>Ps. aeruginosa</i>

CHAPITRE IV :
DISCUSSION

IV.1.- RESISTANCE DES SOUCHES BACTERIENNES AUX BETA-LACTAMINES

IV.1.1.- Résistance des cocci Gram positif

Pour tester la résistance bactérienne, nous avons utilisé la technique de l'antibiogramme standard. Nous avons constaté que 33,93 % des souches à Cocci Gram positif sont résistantes à la Pénicilline G, avec un taux beaucoup plus élevé pour les souches de Staphylocoques (51,61 %).

Nous notons ici une certaine résistance des staphylocoques vis-à-vis des pénicillines en particulier la Pénicilline G, résistance pouvant s'expliquer surtout par la production de pénicillinase inductible chez ces souches mais aussi par la modification de leur cible (28).

Par contre seulement 12 % des souches de Streptocoques sont résistantes à la Pénicilline G. Ce taux se rapproche de celui de KASSE (31), 90 % qui considère cet antibiotique comme le meilleur antistreptococcique, confirmé par LECLERCQ (34).

Chez les Entérocoques, l'espèce *E. durans* est sensible à toutes les pénicillines testées. LECLERCQ la considère comme l'espèce la moins résistante des entérocoques.

S. aureus méti-R présente une sensibilité intermédiaire élevée aux pénicillines surtout la Pénicilline G et l'AM (60 % chacun). La résistance de *S. aureus* à la méticilline est croisée avec toutes les autres bêta-lactamines in vitro mais aussi in vivo (1, 28). La majorité de ces souches étant productrice de bêta-lactamases, les rares souches non productrices seront néanmoins résistantes aux bêta-lactamines en général. La particularité de la résistance de *S. aureus* à la méticilline étant liée à son expression hétérogène, les souches qui présentent une sensibilité intermédiaire sont considérées comme résistantes.

Les bêta-lactamases des staphylocoques ne détruisent pas en général les céphalosporines (28). Les streptocoques leur sont habituellement sensibles, seuls les entérocoques sont résistants à toutes les céphalosporines (34).

Donc cette résistance des cocci à la CZ (46,43 %) à la CRO (35,71 %) et à la CTX (41,67 %) pourrait être attribuée à un mécanisme de résistance autre que la résistance enzymatique. Et certains facteurs comme la densité de l'inoculum, le pH et la durée d'incubation des boîtes de pétri (18 à 24 heures) à l'étuve (37°C), permettent d'optimiser la résistance.

IV.1.2.- Résistance des bacilles à Gram négatif aux bêta-lactamines

Les souches d'*Enterobacter* sont naturellement résistantes aux Aminopénicillines et aux céphalosporines de 1ère génération. Et l'espèce *E. cloacae* en particulier, est résistante aux céphalosporines de 3ème génération (29). Les souches de notre étude présentent une résistance élevée aux aminopénicillines (AM 75 % et AMX 85,5 %) mais les céphalosporines de 3ème génération sont faiblement inactives. Pour l'espèce *E. gergoviae* résistante uniquement à l'AMC, les résultats ne nous permettent ni d'affirmer, ni d'infirmer la résistance naturelle des souches d'*Enterobacter* car une seule souche a été testée.

Quant aux souches de *Klebsiella* que nous avons testées, leur résistance aux céphalosporines est très faible surtout pour la CRO (9,52 %), CTX (4,76 %) et la CFP (0%). Par contre, cette résistance est élevée pour les Aminopénicillines.

Les souches de *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *E. coli* sont naturellement sensibles aux bêta-lactamines. Elles ne produisent pas d'enzymes à un niveau détectable par les techniques usuelles comme l'antibiogramme (29), ce qui explique les faibles taux de résistance de nos souches.

Notre étude montre que les souches d'*Haemophilus influenzae* sont toutes sensibles aux bêta-lactamines et seulement deux souches sur 12 sont résistantes à la CZ. Chez ces souches la proportion de souches sécrétrices de bêta-lactamase est faible et même la résistance de *H. influenzae* à l'ampicilline risque de passer inaperçue avec l'antibiogramme usuel. Ainsi, il faut utiliser l'inoculum lourd pour produire suffisamment d'enzymes capables de détruire l'Ampicilline ou détecter la présence de bêta-lactamases avec certaines techniques comme l'iodimétrie, l'acidimétrie, la méthode à la "Céfinase" (11, 44).

Pseudomonas aeruginosa est totalement résistante au groupe des Pénicillines, céphalosporines de 1ère et 2ème génération (100 %). Les Céphalosporines de 3ème génération sont totalement actives ou faiblement inactives - CFP (20 %) et CAZ (10 %).

IV.2.- BETA-LACTAMASES ET RESISTANCE BACTERIENNE

La résistance bactérienne peut être attribuée à plusieurs mécanismes, mais nous nous sommes surtout intéressés au mécanisme enzymatique.

Ainsi dans notre étude, 74,14 % des souches étudiées sont sécrétrices de bêta-lactamase et cette dernière est d'origine plasmidique car les tests effectués ne nous permettent pas de détecter une bêta-lactamase chromosomique.

Les résistances élevées de nos souches peuvent être attribuées à un mécanisme enzymatique.

Certains auteurs confirment la prédominance de ce mécanisme dans la résistance bactérienne aux antibiotiques (2, 8, 17, 30, 48, 18).

Mais cette résistance est plus accentuée chez les bacilles à Gram négatif que chez les cocci conformément aux travaux de FUKATSU AND AL (26) et de WADJI (65).

Cependant, dans notre étude, le taux de bêta-lactamases détectées chez les cocci Gram positif est largement supérieur à celui de FUKATSU AND AL (26) et superposable à celui obtenu par WADJI (65).

Tableau XXXXV : Pourcentage des bêta-lactamases obtenus d'après certains auteurs

Auteurs & Années	FUKATSU AND AL (26) 1990	WADJI (65) 1993	NOTRE ETUDE 1994
Souches bactériennes			
Cocci à Gram positif	34 %	71,59 %	69,64 %
Bacilles à Gram négatif	76,3 %	87,30 %	76,27 %

Ces bêta-lactamases détectées sont soit des pénicillinases, soit des céphalosporinases.

Dans notre étude, nous les avons réparties en haut et bas niveau. Contrairement aux travaux de **FUKATSU AND AL (26)** et **WADJI (65)**, la prédominance des pénicillinases est observée chez les cocci Gram positif. Par contre, nous avons observé une prédominance des céphalosporinases chez les bacilles à Gram négatif. Certaines de nos souches possèdent le phénotype pénicillinase + céphalosporinase. Ainsi 45,74 % de nos souches présentent des réactions croisées 44,07 % selon **WADJI (65)** et 25,4 % selon **FUKATSU AND AL (26)**.

Dans 25,86 % des souches de notre étude, nous n'avons pas détecté de bêta-lactamases. La résistance peut être due à la sécrétion de bêta-lactamases non détectables par les tests utilisés ou à d'autres mécanismes, à savoir la modification du site d'action de l'antibiotique, la diminution ou perte de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique (2).

IV.2.1.- Chez les cocci

= > Chez *Staphylococcus aureus méti-R*, produisant des céphalosporinases, la résistance est plus élevée chez les céphalosporines telles que la Céfazoline et la Ceftriaxone (60 % chacune).

Les forts pourcentages de résistance observés chez ces souches pourraient être dus au caractère de la résistance de *S. aureus* à la méticilline.

Quant à *S. aureus méti-S*, la fréquence du phénotype P + C, pourrait être responsable de la forte résistance vis-à-vis des céphalosporines, car ces souches ne sont pas productrices de céphalosporinases.

= > Chez *Staphylococcus epidermidis*, un très fort taux de bêta-lactamases a été détecté (100 %). Ces souches présentent une résistance élevée à tous les substrats testés, même à l'association Amoxicilline + Acide clavulinique a un rôle inducteur.

= > Les Entérocoques présentent plus de résistance aux pénicillines et même aux céphalosporines. Pourtant aucune céphalosporinase n'a été détectée chez ces souches.

Mais selon LECLERCQ (34) les Entérocoques sont résistants à toutes les céphalosporines sans exception.

IV.2.1.- Chez les bacilles à Gram négatif

La plupart des souches de notre étude (76,27 %) produisent des bêta-lactamases plasmidiques, d'où l'importance du mécanisme enzymatique dans la résistance de ces souches aux différentes bêta-lactamines.

La résistance de ces germes aux aminopénicillines est élevée chez les souches d'Entérobactéries, ceci est confirmé par JARLIER (29).

Les souches *H. influenzae* sont faiblement résistantes à l'AM (30 %) et cette résistance résulterait d'une production de bêta-lactamase de type TEM selon **PECHERE (44)**. L'association Amoxicilline - Acide clavulanique est presque sans effet sur ces souches.

Les Céphalosporines de 1ère et 3ème générations sont faiblement actives voire inactives sur les bacilles à Gram négatif.

La résistance de ces souches aux céphalosporines de 3ème génération serait due à des mutations survenant dans les gènes contrôlant l'expression des bêta-lactamases chromosomiques, normalement inductibles pouvant entraîner une résistance à ces céphalosporines réputées stables. Ce mécanisme de résistance enzymatique est rencontré essentiellement chez les souches de *Ps. aeruginosa* et d'*Enterobacter cloacae* (61).

La production de céphalosporinase par les souches précédentes étant faible, leur forte résistance serait due aux mutations décrites par **SIROT (61)**.

Quant aux souches de *Klebsiella pneumoniae*, la production en quantité élevée (44,44 %) de céphalosporinases expliquerait la faible activité des céphalosporines de 3ème génération.

Chez *E. coli*, le taux de céphalosporinases détectées est faible (7,14 %) contrairement à celui des Pénicillinases (50 %). L'inactivation des céphalosporines serait due à la production naturelle chez ces souches de céphalosporinases chromosomiques (61).

Selon certains auteurs, la production de bêta-lactamase à large spectre (69) ou le phénotype pénicillinase haut niveau décrit par **JARLIER (29)** peut être incriminé.

Selon **JARLIER (29)**, sur de telles souches présentant le phénotype, l'activité des autres bêta-lactamines y compris les céphalosporines peut être plus ou moins réduite selon le degré de stabilité des souches de *E. coli* vis-à-vis des pénicillinases.

Dans notre étude, une seule *Salmonelle* a été identifiée comme productrice de pénicillinase, la résistance élevée de ces souches aux pénicillines serait due à leur multirésistance transférable, à médiation plasmidique (2).

Selon ACAR J.F., BOUANCHAUD D.H., BUU HOI A., le même type de résistance a été décrit au Japon pour *Shigella flexneri* chez lequel nous n'avons détecté qu'une Pénicillinase. La seule souche de *Shigella sonnei* testée est sensible à la Ceftriaxone mais résistante au Céfotaxime. Ce profil est confirmé par la littérature (12).

Toutes les souches de *Shigella sonnei* possèdent une céphalosporinase chromosomique exprimée à très bas niveau sans conséquence sur le profil de résistance (12).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* chez lesquelles nous avons détecté 90% de bêta-lactamases sont toutes résistantes à l'Amoxicilline + Acide clavulanique. Cependant, la Ceftazidime considérée par DIENNE (24) comme le meilleur antibiotique dans le traitement des infections à *Pseudomonas* est très active (90 % de sensibilité) sur ces souches. Cette activité de la Ceftazidime peut être due à la production de bêta-lactamases plasmidiques de type TEM-1 et OXA (8).

IV.2.3.- Bêta-lactamase à spectre élargi chez les bacilles à Gram négatif

Les bêta-lactamases à spectre élargi ont été récemment décrites par de nombreux auteurs (54, 61, 41, 66). Ce sont des enzymes plasmidiques médiatrices de résistances aux pénicillines et à certaines céphalosporines de 3ème génération chez des espèces habituellement sensibles à ces antibiotiques.

Cette recherche de bêta-lactamase à spectre élargi (7,14 % de nos souches) est devenue une nécessité car elle permet de déceler la sécrétion de bêta-lactamases chez des souches rendues à tort sensibles aux céphalosporines de 3ème génération et à l'association Amoxicilline - Acide clavulanique.

Nous avons constaté que les souches productrices de BLSE montrent des diamètres d'inhibition très réduits aux céphalosporines testées et même à l'Ampicilline. Pour ces souches, le niveau de résistance est faible.

La plupart des souches produisant une BLSE est identifiée avec l'AUGMENTIN^R d'où le rôle d'inhibiteur efficace de l'Acide clavulanique. Une seule synergie a été observée entre l'Aztréonam et l'Ampicilline, ce qui révèle la présence d'une pénicillinase à spectre élargi.

Dans notre étude, la prédominance des BLSE est observée chez les Klebsielles (4 souches de *Klebsiella pneumoniae* parmi les 21 testées), et elle est confirmée par la littérature (33).

Nous rapportons le cas d'une souche de *Proteus rettgeri* et d'une souche de *Shigella dysenteria* productrices de BLSE.

Cette résistance enzymatique à médiation plasmidique a été surtout décrite chez *Klebsiella pneumoniae* et rarement chez *Kl. oxytoca*, *E. coli*, *Salmonella spp* et *E. cloacae* (64). A notre connaissance, la littérature n'a pas fait état de la production de BLSE chez les Shigelles et chez *Proteus rettgeri* d'où l'intérêt d'effectuer systématiquement cette recherche chez les Entérobactéries pour éviter les erreurs d'interprétation quant à la sensibilité des souches.

IV.3.- TYPAGE DES BETA-LACTAMASES

Les critères de classification établis nous ont permis de typer 27,13 % des souches sécrétrices de bêta-lactamases.

La souche de *S. aureus méti-S*, pénicillinase à bas niveau est de type Ia ou encore TEM-1.

Selon PHILIPPON A., PAUL G. et NEVOT P. (51) l'existence de différentes classifications dans lesquelles prédominent les termes de pénicillinases et céphalosporinases entretiennent la confusion et sont affaire de spécialistes. Ainsi, pour le même type enzymatique, nous pouvons avoir plusieurs appellations.

Cette souche de *S. aureus méti-S* est donc productrice de pénicillinase de type Ia ou TEM-1. Le même type de bêta-lactamase est retrouvé chez *S. aureus méti-R* sécrétrice de pénicillinases et céphalosporinases.

Le déterminisme génétique de ces pénicillinases étant d'origine plasmidique, chez ces souches, nous avons des pénicillinases de type TEM-1.

La souche de *S. aureus méti-R* de phénotype céphalosporinase à bas niveau aurait un plasmide codant pour les bêta-lactamases hydrolysant les céphalosporines.

Les souches d'*Enterobacter* de phénotype P + C sont typables d'après nos critères, elles sont de type Ia ou TEM-1. **BINGEN (9)**, **RICHMOND ET SYKES** ont classé ce genre dans la classe Ia, mais il s'agit là d'une céphalosporinase.

La seule espèce d'*Enterobacter gergoviae* testée est une céphalosporinase de type Ia, ceci est confirmé dans la classification de **RICHMOND ET SYKES** par **BINGEN (9)**.

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, trois types ont été retrouvés :

- *Ps. aeruginosa* de type Id, est selon **BINGEN (9)**, de phénotype céphalosporinase.
- *Ps. aeruginosa* de type III possède également le phénotype céphalosporinase. Mais nous avons retrouvé ce type chez les souches de *Ps. aeruginosa* ayant le phénotype pénicillinase.
- *Ps. aeruginosa* de type IV a le plus souvent une pénicillinase à médiation plasmidique encore appelé type OXA ou PSE (3). Nous avons retrouvé ce type V chez *Ps. aeruginosa* présentant une réaction croisée, ce qui peut nous faire supposer la prédominance du phénotype pénicillinase dans cette réaction croisée.

Quant aux souches de *Klebsiella*, deux types ont été identifiés :

- le **type III** chez *Kl. pneumoniae* et *Kl. oxytoca*, encore appelé type OXA-2 correspondant à la classe Vb de **RICHMOND** et **SYKES**, possédant une pénicillinase à médiation plasmidique.

Nous avons identifié ce type de bêta-lactamase chez les Klebsielles sécrétant une céphalosporinase et ayant le phénotype P + C.

- le **type IV** chez *Kl. pneumoniae* uniquement chez *E. coli* ayant les phénotypes pénicillinase, pénicillinase et céphalosporinase, les types II et III ont été identifiés dans notre étude.

Selon **BINGEN** (9), ces types II et III correspondent respectivement aux classes Va et Vb de **RICHMOND** et **SYKES** et sont de type pénicillinase.

Ceci peut nous amener à supposer toujours la prédominance de l'action des pénicillinases sur les céphalosporines. Il en est de même chez *Proteus mirabilis*.

Quant aux *Salmonella* et *Shigella* de type TEM, ces souches ont été surtout classées à partir du profil Ampicilline R, céphalosporines de 1ère génération R, céphalosporines de 2ème et 3ème générations S.

Selon **BINGEN** (9), ce type TEM est médiateur de céphalosporinase plasmidique. Les bêta-lactamases de type TEM ont été retrouvées chez des souches de *Salmonella* et *Shigella* sécrétrices de pénicillinase et possédant le phénotype P + C.

Ici, nous pouvons supposer que dans la réaction croisée, les céphalosporinases jouent un rôle prépondérant par rapport aux pénicillinases.

Les différentes classifications des bêta-lactamases entretiennent souvent la confusion. Ainsi, pour une identification précise du type enzymatique, il est nécessaire de procéder par focalisation isoélectrique sur gel.

CONCLUSION

La sécrétion de bêta-lactamases, principal mécanisme de la résistance bactérienne est reconnue chez la plupart des espèces bactériennes. Ces dernières, nanties d'un moyen de résister à certains agents antibactériens, pourraient être responsables d'échecs thérapeutiques dans la pratique clinique.

Le but de notre étude a été d'abord de détecter les bêta-lactamases des souches bactériennes multirésistantes à partir de substrats antibiotiques, ensuite de classer ces différentes bêta-lactamases par le profil des substrats testés.

Cette étude a été réalisée à partir de 174 souches bactériennes réparties comme suit :

- 56 souches de cocci à Gram positif avec comme espèces *Staphylococcus aureus* Méti-S et Méti R, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus A et B* et *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus durans*.
- 118 bacilles à Gram négatif avec comme espèces *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* et *Haemophilus influenzae*.

Ces souches présentent des pourcentages de résistance élevés à au moins deux antibiotiques, d'où leur caractère multirésistant.

Pour détecter les bêta-lactamases chez ces souches, nous avons choisi de les tester par les substrats bêta-lactamines parmi lesquels les pénicillines, les céphalosporines, les monobactams dont le seul représentant est l'Aztréonam.

Trois méthodes ont été utilisées pour la détection de bêta-lactamases aussi bien chez les cocci à Gram positif que chez les bacilles à Gram négatif.

Il s'agit de :

- La méthode à la "Céfinase" ou Nitrocéphine. C'est une méthode chromogénique, très sensible pour la détection des bêta-lactamases, mais ne donne en aucun cas le phénotype.

- L'acidimétrie qui est une méthode par modification du pH.
- L'iodimétrie qui est une méthode réductimétrique.

Ces deux dernières méthodes permettent d'identifier le phénotype.

Parmi les 174 souches bactériennes testées, 74,14 % sécrètent une bêta-lactamase plasmidique avec une prédominance chez les bacilles à Gram négatif 76,27 % par rapport aux cocci Gram positif 69,64 %. Chez 23,73 % des souches de notre échantillonnage, malgré leur multirésistance, aucune bêta-lactamase n'a été détectée, d'où l'intervention de mécanismes de résistance autre que le mécanisme enzymatique.

A l'aide des substrats antibiotiques et grâce aux tests acidimétrique et iodimétrique, nous avons réparti les bêta-lactamases en pénicillinase 29,46 %, et en Céphalosporinases 24,80 %. Toutefois 45,74 % des souches sécrètent à la fois ces deux types d'enzymes, d'où la prédominance de cette réaction croisée.

Nous avons constaté chez ces souches sécrétant une pénicillinase ou céphalosporinase, l'inefficacité respective des pénicillines et céphalosporines. Et chez les souches de Streptocoques du groupe B où aucune bêta-lactamase n'a été détectée à l'antibiogramme, une résistance vis-à-vis des pénicillines et céphalosporines a été observée d'où la sensibilité de ces tests, permettant la détection de toutes les bêta-lactamases.

Sur les souches d'Entérobactéries et de *Ps. aeruginosa*, nous avons recherché les bêta-lactamases à large spectre et 7,14 % de nos souches ont été identifiées comme en possédant. Ce taux n'est pas négligeable car ces souches peuvent être rendues à tort sensibles, ce qui conduirait à des erreurs dans l'interprétation des résultats. Ces BLSE ont été retrouvées parmi les souches de *Klebsiella* (16 %), de *Salmonella* (9,09 %), de *Proteus* (9,09 %) et de *Shigella* (8,33 %).

En tenant compte du profil de substrats, nous avons défini des critères de classification permettant de classer les bêta-lactamases en haut et bas niveau.

- Les Pénicillinases à haut niveau hydrolysent la Pénicilline G, l'Ampicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique et la Céfazoline, tandis que les Pénicillinases à bas niveau n'hydrolysent que la Pénicilline G et l'Ampicilline.

- Les Pénicillinases à haut niveau hydrolysent la Pénicilline G, l'Ampicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique et la Céfazoline, tandis que les Pénicillinases à bas niveau n'hydrolysent que la Pénicilline G et l'Ampicilline.
- Les Céphalosporinases à haut niveau hydrolysent les céphalosporines de 1ère et 2ème générations et attaquent la Nitrocéphaline. Quant aux bas niveaux, seule les céphalosporines de 1ère génération sont hydrolysées de même que l'Ampicilline et l'association Amoxicilline - Acide clavulanique.

En tenant compte du profil de substrat, de la classification de **RICHMOND** et **SYKES** et de la nomenclature des différentes classifications, nous avons essayé de classer ces phénotypes de bêta-lactamases en différents types.

Parmi les cocci à Gram positif, seules les souches de *S. aureus* Méti-S et Méti-R ont pu être typées d'après les critères que nous avons définis. Ainsi 7,69 % des cocci ont été typés. Quant aux bacilles à Gram négatif, 35,55% ont pu être typés. Ces souches secrètent soit des pénicillinases, soit des céphalosporinases, soit les deux types à la fois. Selon les critères définis, les souches bactériennes typables sont réparties comme suit :

- 16,67 % des staphylocoques,
- 22,22 % des souches d'*Enterobacter*,
- 55,55 % des *Pseudomonas aeruginosa*,
- 27,27 % des *Klebsielles*,
- 42,86 % des souches d'*E. coli*,
- 75 % des *Salmonelles*,
- 40 % des *Shigelles*,
- 36,36 % des *Proteus*.

Les différents types identifiés sont les types Ia, Id, II, IIb, III, IV et V.

Mais pour avoir un typage très précis de ces phénotypes, il aurait fallu utiliser les techniques approfondies comme l'isoélectrofocalisation. Il s'agit d'une électrophorèse se faisant en présence d'ampholytes et qui permet de séparer les bêta-lactamases en fonction de leur point isoélectrique et du gradient de pH. L'identification doit se faire par comparaison des résultats avec un échantillon de point isoélectrique connu.

Les différentes techniques utilisées pour la détection des bêta-lactamases sont de réalisation simple, d'interprétation facile. Cependant, une recherche de BLSE doit être systématique chez les bacilles à Gram négatif pour éviter les erreurs d'interprétation quant à la sensibilité des souches aux antibiotiques.

Pour la recherche des types de bêta-lactamases, nous recommandons l'utilisation de techniques plus précises et fiables telles que l'isoélectrofocalisation sur gel.

BIBLIOGRAPHIE

- 1.- **ACAR J.F., COURVALIN P. AND CHABBERT Y.A.**
Methicillin-résistant Staphylococci : bacteriological failure of treatment with cephalosporins.
Antimicrob. Agents Chemother, 1970, 280-285
- 2.- **ACAR J.F., BOUANCHAUD D. H., BUU HOÏ A.**
Résistance bactérienne aux antibiotiques.
In "LE MINOR L., VERON M., Bactério. Méd."
Flam., Med. Sciences, Paris, 1ère Edition 1982, 213-224
- 3.- **AL OBEID S.**
Méthode d'évaluation de l'activité in vitro de la Teicoplanine
Inf. Med. Labo Merell Dow, Paris, Ed. 1991
- 4.- **BENNANI M.**
Intérêt des inhibiteurs des bêta-lactamases en antibiothérapie
Thèse Pharmacie, Dakar, 1989, n°4.
- 5.- **BERGOGNE E. B., CARBON C., COLLATZ E., JOLLY V., SINGLAS E.**
Résistance bactérienne
Communication partenaire Santé, n° spécial 1991
- 6.- **BINGEN E.**
Classification structurale des bêta-lactamines et relation structure-activité
In "Mécanisme d'action des bêta-lactamines de la structure bactérienne à la structure molécule"
Laboratoire Roussel, Nice, 1986, 47-62
- 7.- **BINGEN E.**
Différentes classifications des céphalosporines
In "Mécanisme d'action des bêta-lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule"
Laboratoire Roussel, Nice, 1986, 63-68
- 8.- **BINGEN E.**
Différents mécanismes de la résistance bactérienne aux bêta-lactamines
In "Mécanisme d'action des bêta-lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule"
Laboratoire Roussel, Nice, 1986, 31-46
- 9.- **BINGEN E.**
Mécanisme d'action des bêta-lactamines
In "Mécanisme d'action des bêta-lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule"
Laboratoire Roussel, Nice, 1986, 7-30

- 10.- **BOUCHERLE A.**
Les inhibiteurs de bêta-lactamases
Revue Essaydali, 1984, (11) : 27-34
- 11.- **CATLIN B.M.**
Iodimetric detection of haemophilus influenzae bêta-lactamase : rapid presumptive test for Ampicilline resistance
Antimicrob. Agents Chemother, 1975, 7 : 265-270.
- 12.- **CAVALLO J.D., BERCION R., BAUDET J.M., SAMSON T., FRANCE M. ET MEYRAN M.**
Etude de la sensibilité aux antibiotiques de 140 souches de Shigelles isolées à Djibouti.
Bull. Soc. Path. Ex., 1993, 86 : 35-40.
- 13.- **CHABBERT Y. A.**
L'antibiogramme : sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques
Coll. techn. de base, Ed. de la Tourelle, St Mandé, 1963
- 14.- **CHANAL C. M., SIROT D.L., PETIT A., LABIA R., MORAND A., SIROT J. L., CLUZEL R.A.**
Multiplicity of TEM-derived bêta-lactamases from Klebsiella pneumoniae isolates at the same hospital and relationships between the responsible plasmids
Antimicrob. Agents Chemother., 1989, 33 : 1415-1420
- 15.- **COOKSEY R. C.**
Mechanism of resistance to antimicrobial agents
In "LENETTE E.H., BALOWS A., HAUSLER W.J. AND SHADOMY H.J., Man. of Clin. Microb. "
Am. Soc. Microb. Washington D.C., 5ème Edition 1991, 1099-1103.
- 16.- **COURVALIN P.**
Plasmides de résistance aux antibiotiques
In "LE MINOR L., VERON M., Bactério-Méd. "
Flam, Med. Sciences, Paris, 1ère Edition, 60-62.
- 17.- **COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILLIPON A., SIROT J.**
Détection des bêta-lactamases
Antibiogramme, Mpc-Vidéom, Paris, 1ère Edition 1985, 225-236
- 18.- **COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILLIPON A., SIROT J.**
Détection d'un enzyme inactivateur des antibiotiques
Antibiogramme, Mpc-Vidéom, Paris, 1ère Edition 1985, 293-298.
- 19.- **COURVALIN P., TRIEU-CUOT P.**
Plasmides et transposons de résistance aux antibiotiques
In "LE MINOR L., VERON M., Bactério. Méd. "
Flam., Méd. Sciences, Paris, 2ème Edition 1989, 316-331.

- 20.- **COURVALIN P., PHILLIPON A.**
Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents anti-bactériens
In "LE MINOR L., VERON M., Bactério. Méd."
Flam., Méd. Sciences, Paris, 2ème Edition 1989, 332-355.
- 21.- **DAVIES J., SMITH D. I.**
Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents
Ann. Rev. Biochem., 1978, (32) : 469-518
- 22.- **DESCHASEAUX M. L., JOUVENOT M., ADESSI G. L., MICHEL-BRIAND Y.**
Two presumed novel bêta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae
Antimicrob. Agents Chemother. 1988, 21 : 133-135.
- 23.- **DIA B.**
Etude de la résistance des staphylocoques et des streptocoques aux antibiotiques
Thèse Pharmacie, Dakar, 1993, n°67
- 24.- **DIENNE J. F.**
Infections urinaires nosocomiales dans le service d'urologie du CHU A. Le DANTEC : Etude de l'écologie bactérienne
Thèse Pharmacie, Dakar, 1993, n° 11.
- 25.- **FOSTER T. J.**
Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria
Microb. Rev., 1983, 47 : 361-409.
- 26.- **FUKATSU AND AL**
Detection of bêta-lactamase producing strains isolated from urinary tract and their susceptibility
Hinyokika Kyo-Acta Urologica Japonica, 1990, 36 (5) : 569 - 571.
- 27.- **GUTMANN L.**
Spectre des inhibiteurs des bêta-lactamases
Med. Mal. Infect., 1982, hors série Mai, 52-56
- 28.- **GUTMANN L., GOLDSTEIN F.**
Staphylocoques et bêta-lactamines
Antibiogramme Mpc-Videom, Paris, 1ère Edition 1985, 23-28.
- 29.- **JARLIER V.**
Entérobactéries et bêta-lactamines
Antibiogramme Mpc-Videom, Paris, 1ère Edition 1985, 87-101

- 30.- **JARLIER V., NICOLAS M. H., FOURNIER G., PHILLIPON A.**
Extended broad-spectrum bêta-lactamases conferring transferable resistance to newer bêta-lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns
Rev. Infect. Dis., 1988, 10 : 867-878
- 31.- **KASSE C.**
Sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoques isolées au CHU de Dakar
Thèse Pharmacie, Dakar, 1992, n° 94.
- 32.- **KLIEBE C., NIES B. A., MEYER J. F., TOLXDORFF-NEUTZLING R. M., WIEDEMANN B.**
Evolution of plasmid-coded resistance to broad spectrum cephalosporins
Antimicrob. Agents Chemother., 1985, 28 : 302-307.
- 33.- **LECAILLON E., BOIXADOS M., DELPECH N., CABROL A., GUEDET P., NEGRE G., FAILLIE X., ROULLAN S.**
Emergence de *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* possédant une BLSE : traitement et suivi.
Med. Mal. Infect., 1993, (23) : 427-430.
- 34.- **LECLERCQ L.**
Streptocoques et autres antibiotiques
Antibiogramme Mpc-Videom, Paris, 1ère Edition, 1985, 49-56.
- 35.- **MEDEIROS A. A.**
Bêta-lactamase
Brit. Med. Bull., 1984, 40 : 18-27.
- 36.- **MEDEIROS A. A., COHENFORD M., JACOBY G. A.**
Five novel plasmid determined bêta-lactamases
Antimicrob. Agents Chemother., 1985, 2 : 715-719.
- 37.- **MICHEL-BRIAN Y.**
Les nouveaux aspects de la thérapeutique antibiotique : les inhibiteurs d'enzymes
Compte-rendus des Sc. de la Soc. de Biol., 1982, 176, (4) : 454 p.
- 38.- **MITSUHASHI S.**
Drug resistance plasmids
Mol. cell. biochem, 1979, 26 : 135-181.
- 39.- **MOAT N.**
Les nouvelles bêta-lactamines
Med. Mal. Infect., 1987, n° spécial, 43-48.

- 40.- **NDIAYE Y. K.**
Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance par sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi de souches de bacilles à Gram négatif isolées au CHU de Dakar
Thèse Pharmacie, Dakar, 1992, n° 95.
- 41.- **NDOYE B., HUGARD L., SACCHARIN C.**
Bêta-lactamases à spectre élargi : bilan sur un an à l'Hôpital Principal de Dakar (1er février 1992-1er février 1993), Dakar, 1993.
- 42.- **PALZKILL T., BOTSTEIN D.**
Identification of aminoacid substitutions that alter the substrate specificity of TEM-1 bêta-lactamase
Journal of Bactériol., 1992, 174, (16) : 5237-5243.
- 43.- **PAYNE D. J., AMYES S.G.B.**
Transferable resistance to extended-spectrum bêta-lactams : a major treat or minor inconvenience ?
Antimicrob. Agents Chemother., 1991, (27) : 253-261
- 44.- **PECHERE J.C.**
Bases bactériologiques de la thérapeutique antibactérienne
Bactériol. Méd., Flam. Med - Sciences, Ed. 1989, 370-385.
- 45.- **PECHERE J. C., KHOURY S.**
La résistance bactérienne
In Khoury S.
Urologie : Path. Infect. et Parasit. Ed. Masson, Paris, 1985, 32-35.
- 46.- **PHILIPPON A.**
Les bêta-lactamases
Bull. Ass. Anc. El. Inst. Pasteur, 2 : 80-84.
- 47.- **PHILIPPON A.**
Les bêta-lactamases
Tech. Biol., 1983, 2, 80-84.
- 48.- **PHILLIPON A., FOURNIER G., PAUL G., NEVOT P.**
Détection et distribution des bêta-lactamases à spectre élargi chez les Entérobactéries.
Méd. Mal. Infect., 1988, 12 : 869-876.
- 49.- **PHILLIPON A., PAUL G., GEORGES A.**
New plasmid-mediated oxacillin-hydrolysing bêta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*
Antimicrob. Agents Chemother., 1986, 17 : 415-422.

- 50.- PHILLIPON A., PAUL G., NEVOT P.
Les inhibiteurs de bêta-lactamases : Principes théoriques et intérêts thérapeutiques
La lettre de l'infect., 1986, 1, (9) : 253-258
- 51.- PHILLIPON A., PAUL G., NEVOT P.
Mécanisme de résistance enzymatique aux bêta-lactamines
Presse Med., 1986, 15, (46) : 2290-2296
- 52.- RAHIL J., PRATT R. F.
Mechanism of inhibition of the class C bêta-lactamase of *Enterobacter cloacae* P99 by phosphonate monoesters
J. Biochem., 1992, 31, (25) : 5869-5878
- 53.- RENIER R.
Antibiotics : An introduction
Roche Sc. Service, New York, 1982.
- 54.- RICHARD C., PHILIPPON A., MBOUP S. ET VIEU J.F.
Epidémiologie des infections pédiatriques à *Klebsiella* dans deux hôpitaux de Dakar. Production de bêta-lactamases à spectre élargi.
Méd. Mal. Infect., 1989, 19, (12) : 753-759.
- 55.- RICHMOND M. H.
Bêta-lactam antibiotics
Academic press, 1981, 261-273
- 56.- ROBERT C., COOKSEY R.C.
Mechanisms of resistance to antimicrobial agents
Antimicrobial Agents and susceptibility tests, 1985, 1099-1104
- 57.- SCHOENKNECHT F. D., SABATH L. D., AND THORNSBERRY C.
Susceptibility tests : special test
In "LENETTE E.H., BALOWS A., HAUSLER W.J. AND SHADOMY H.J. Man. of Clin. Microb."
Am. Soc. for Microb., Washington D.C., 4ème Edition 1985, 1000-1008.
- 58.- SELHANE M.
Résistance bactérienne : Intérêt de l'Augmentation en Pédiatrie
Thèse Médecine, Maroc, 1987, n° 137.
- 59.- SHAKAT S., SIROT D., MBOUP S., PETAT E., RICH C., GOLY B., DENIS F. ET CLERZEL R.
Résistance aux antibiotiques et distribution particulière des bêta-lactamases plasmidiques chez les colibacilles isolés de diarrhées infantiles aiguës en Afrique.
Méd. Mal. Infect., 1988, 11 : 824-828.

- 60.- **SINGLAS E., ARTHAUD A., SULTAN E.**
Pharmacocinétique comparée des inhibiteurs des bêta-lactamases et ses pénicillines associées
Lettre Infect. de la Microb à la clin., 1986.
- 61.- **SIROT J.**
Résistance enzymatique des bacilles à Gram négatif aux céphalosporines de 3ème génération.
Méd. Mal. Infect., 1989, 24-30.
- 62.- **THABAUT A., MEYRAN M.**
Nouvelles bêta-lactamines : Essai de classification, relations structure-activité.
Tempo. Med., 1981, 78 : 9-53
- 63.- **UNASYN**
Susceptibility testing : Testing for bêta-lactamases
Information of the microbiologist, 1986, 17-25
- 64.- **VARLET A., TAHON M.M., BRULE J.G.F., VALLEE D.**
Isolement de deux souches de *Proteus mirabilis* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi.
Inf. Techn. Biol., 1989, 4 : 103-105.
- 65.- **WADJI S. D.**
Etude comparative de différentes méthodes de détection des bêta-lactamases sur des souches bactériennes isolées à Dakar
Thèse Pharmacie, Dakar, 1993, n° 84
- 66.- **WIEDERMANN B.**
Plasmid-mediated Extended spectrum bêta-lactamases
Med. Mal. Inf., 1992, 22 : 524-528
- 67.- **WILLAMSON R., COLLATZ E., GUTMANN L.**
Mécanismes d'action des bêta-lactamines et mécanismes de résistance non enzymatique
Presse Med., 1986, 15, (46) : 2282-2289.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

- * D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;**
- * D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;**
- * De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.**

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

VU
LE PRESIDENT DU JURY



VU
LE DOYEN P. O



VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LE RECTEUR DE L'UNIVERSITE DE DAKAR

