

**UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR**



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



ANNEE 2004

N° 54

**MICROMETHODE D'ETUDE *IN VITRO* DE LA  
SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES  
MYCOPLASMES, DES STAPHYLOCOQUES ET DES  
ENTEROBACTERIES**

**THESE**

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

**Présentée et soutenue publiquement  
le 21 Juillet 2004**

**Par**

**M<sup>lle</sup> Kène Bougoul SECK**

Née le 20 Décembre 1977 à Rufisque (SENEGAL)

---

**MEMBRES DU JURY**

|                                    |                          |         |                              |
|------------------------------------|--------------------------|---------|------------------------------|
| <b><u>Président :</u></b>          | M. Omar                  | NDIR    | Professeur                   |
| <b><u>Membres :</u></b>            | M. Cheikh Saad-Bouh BOYE |         | Professeur                   |
|                                    | M. Mamadou               | BADIANE | Maître de Conférences Agrégé |
|                                    | M. Ahmad Iyane SOW       |         | Maître de Conférences Agrégé |
| <b><u>Directeur de Thèse :</u></b> | M. Cheikh Saad-Bouh BOYE |         | Professeur                   |

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

-----

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

-----



## *PERSONNEL ADMINISTRATIF DE LA FACULTE*

|                                  |                     |         |
|----------------------------------|---------------------|---------|
| DOYEN                            | M. Doudou           | THIAM   |
| PREMIER ASSESSEUR                | M. Cheikh Saad Bouh | BOYE    |
| DEUXIEME ASSESSEUR               | M. Malick           | SEMBENE |
| CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS | M. Assane           | CISSE   |

# LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE ANNEE UNIVERSITAIRE 2003–2004

## I. MEDECINE

### *PROFESSEURS TITULAIRES*

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

---

\* Associé

§ Détachement

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

## ***MAITRES DE CONFERENCES AGREGES***

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

|                     |         |  |
|---------------------|---------|--|
| M. Birama           | SECK    | Pédopsychiatrie                          |
| <hr/>               |         |  |
| + disponibilité     |         |  |
| * Associé           |         |  |
| M. EL Hassane       | SIDIBE  | Endocrinologie-Métabolisme<br>Nutrition- |
| Diabétologie        |         |  |
| *M. Masserigne      | SOUMARE | Maladies Infectieuses                    |
| M. Ahmad Iyane      | SOW     | Bactériologie-Virologie                  |
| Mme.Haby SIGNATE    | SY      | Pédiatrie                                |
| M. Mouhamadou Habib | SY      | Orthopédie-Traumatologie                 |
| M. Omar             | SYLLA   | Psychiatrie                              |
| M. Alé              | THIAM   | Neurologie                               |

### ***MAITRES-ASSISTANTS***

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

|                    |       |         |                       |
|--------------------|-------|---------|-----------------------|
| +Mme Coura         | SEYE  | NDIAYE  | Ophtalmologie         |
| *M. Cheikh Tidiane |       | NDOUR   | Maladies Infectieuses |
| M Ndaraw           |       | NDOYE   | Neurochirurgie        |
| M. Oumar           |       | NDOYE   | Biophysique           |
| M. Abdou           |       | NIANG   | Néphrologie           |
| Mme Suzanne Oumou  |       | NIANG   | Dermatologie          |
| M. Abdoulaye       |       | POUYE   | Médecine Interne      |
| Mme Paule Aïda     | NDOYE | ROTH    | Ophtalmologie         |
| Mme Anne Aurore    |       | SANKALE | Chirurgie Générale    |

---

\* Associé  
+ Disponibilité

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

## ***ASSISTANTS***

|                        |         |                        |
|------------------------|---------|------------------------|
| Mlle Agaïcha Tamolette | AIFIDJA | Radiologie             |
| M. Abdoulaye           | BA      | Physiologie            |
| M. Boubacar Samba      | DANKOKO | Médecine Préventive    |
| M. Abdoulaye Séga      | DIALLO  | Histologie-Embryologie |
| Melle Fatou            | DIALLO  | Biochimie              |

### **Médicale**

|                     |        |                         |
|---------------------|--------|-------------------------|
| M. Dialo            | DIOP   | Bactériologie-Virologie |
| M. EL Hadj Alioune  | LO     | Anatomie Organogénèse   |
| M. Papa             | NDIAYE | Médecine Préventive     |
| M. Jean Marc Ndiaga | NDOYE  | Anatomie                |
| M. Kamadore         | TOURE  | Médecine Préventive     |

## ***CHEFS DE CLINIQUE-ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX***

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

---

\* Associé  
& Détachement

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

### ***ATTACHES CHEFS DE CLINIQUE***

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

### ***ATTACHES-ASSISTANTS***

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

---

\*Associé

## II. PHARMACIE

### *PROFESSEURS TITULAIRES*

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

### *MAITRES DE CONFERENCES AGREGES*

|                   |             |                            |
|-------------------|-------------|----------------------------|
| M. Mamadou        | BADIANE     | Chimie Thérapeutique       |
| M. Mounirou       | CISS        | Toxicologie                |
| *M. Aynina        | CISSE       | Biochimie Pharmaceutique   |
| M. Balla Moussa   | DAFFE       | Pharmacognosie             |
| Mme Aminata       | SALL DIALLO | Physiologie Pharmaceutique |
| M. Yérim Mbagnick | DIOP        | Chimie Analytique          |
| M. Amadou         | DIOUF       | Toxicologie                |

### *MAITRES-ASSISTANTS*

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

### *ASSISTANTS*

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

---

\* Associé

+ disponibilité



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

## ***ATTACHES***

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

---

\* Associé

### **III. CHIRURGIE DENTAIRE**

#### ***PROFESSEURS TITULAIRES***

|                            |              |  |
|----------------------------|--------------|--|
| M. Ibrahima<br>&Mme Ndioro | BA<br>NDIAYE | Pédodontie-Prévention<br>Odontologie Préventive et Sociale |
|----------------------------|--------------|--|

#### ***MAITRES DE CONFERENCES AGREGES***

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

#### ***MAITRES ASSISTANTS***

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

#### ***ASSISTANTS***

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

---

\* Associé

## *ATTACHES*

M. Abdoulaye

M. Alpha

M. Oumar Harouna

M. El Hadj Babacar

Mlle Fatou

DIOUF

KOUNTA

SALL

MBODJ

LEYE

Parodontologie

Chirurgie Buccale

Matières Fondamentales

Prothèse Dentaire

O.C.E.

## **DEDICACES**

Au nom d'ALLAH, tout Clément, tout Miséricordieux  
Louange à ALLAH, l'Eternel, l'Omniscient, le tout Puissant  
Ta miséricorde est sur ceux qui espère de toi  
Tu nous as permis de passer ces difficultés avec sérénité  
Guide nos pas sur le chemin qu'il nous reste à parcourir  
afin que nous demeurions fidèles à tes recommandations  
Ouvre nous les portes de ton savoir et de ta  
connaissance ; certes tu es l'Omniscient

Amin

## *In Mémorium*

### *A ma chère mère*

*Les mots me manquent chère mère.*

*Comme ton amour et ta tendresse me manquent*

*Que ne donnerions nous pas pour t'avoir aujourd'hui à nos côtés.*

*Le vide que ta disparition a laissé en nous restera éternel*

*Femme travailleuse, infatigable, courageuse, exemplaire, modèle de dévouement et de générosité*

*Le bonheur de tes enfants a été ta seule préoccupation et leur réussite ton principal souci*

*Tes souffrances n'ont pas été vaines*

*Que les portes du Paradis te soient grandes ouvertes*

### *A mon cher père*

*Quelle tristesse nous ressentons à constater aujourd'hui ton absence*

*Tu fus un père exemplaire. Ta simplicité, ta modestie, ton humilité et ton honnêteté m'ont beaucoup marqués.*

*Tu n'avais jamais cessé de nous exhorter au travail.*

*Aujourd'hui, il ne nous reste qu'à vous affirmer notre gratitude infinie*

*Que Dieu vous accueille dans son Paradis*

### ***A ma tante Daba GUEYE***

*Toute notre reconnaissance. Tu as toujours été présente.  
Plus qu'une tante, tu as été pour nous une mère et un père.  
Sans toi rien de tout cela ne serait arrivé .Ce travail est le fruit de tes multiples sacrifices  
Merci pour le soutien moral et matériel que vous n'avez jamais cessé de nous apporter  
Nous osons croire que ce modeste travail t'apportera joie et fierté  
Que Dieu, le tout Puissant t'accorder longue vie et santé.*

### ***A ma tante Kiné GUEYE***

*Pour vos conseils et votre estime, ce travail est le votre .Voyez-y toute notre profonde gratitude.  
Puisse notre affection mutuelle se perpétuer .Nous vous souhaitons de réussir sur la bonne voie que tu t'es tracée .Toute ma reconnaissance pour votre soutien.*

### ***A ma sœur adorée Astou***

*Ma sœur ,mon amie , ma complice ,ma confidente.  
Toute ma reconnaissance pour ton amour ,ta patience, ton soutien à tous les niveaux m'ont donné la force , la persévérance pour mener à bien mes études.  
Ce travail est le tien et j'espère t'avoir servi d'exemple .Tu as toujours su me remonter pendant les moments les plus durs.*

### ***A mon grand frère Ibou***

*Merci pour tout*

### ***A Diarra, Mara, Mor, Khadim Et El Hadji.***

*Je leur dis : le chemin est long mais faisable*

### ***A mes oncles et leurs familles :***

*Je vous suis reconnaissante pour tout le soutien que vous n'avez jamais cessé de m'apporter tout au long de ces années.Merci pour tout.*

### ***Au Docteur Mamadou Moustapha Guéye et famille***

*Merci pour tout le soutien*

*A mes tantes et leurs familles*

*A mes cousins et cousines*

*A mon homonyme Kéne GUEYE et ses parents*

*A la famille SECK de Cambérène*

*A toute la famille GUEYE*

*A la famille SECK de Rufisque*

*A mes copains copines*

*Qui sauront sans se voir nommer, trouver ici toute ma sympathie et l'expression de mon attachement. J'espère que le temps et les années ne nous sépareront pas. Que chacun trouve ici, l'expression de mon attachement.*

*A Abdou Aziz Ndiaye « in memorium »*

*A mes camarades et Promotion*

*A mes co-thésards*

*Rose, Maïmouna, Tening, Rokhaya, Mamy Touré, Mah-Koro, Hafsatou et Ibrahima Sagna*

*A mes maîtres de l'école primaire Thierno Salif Ndongo*

*A mes professeurs de CEM Oggo Diop des Parcelles assainies*

*A mes professeurs du Lycée limamou Laye*

*A mes professeur de l'UCAD*

## REMERCIEMENTS

*A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec : Madame Thiam, Assane Faye, Diakité, Abdallah, , Gédéon, Alose, El Hadj, Khady Léna, Aïda, Oumar, Djiby*

*A tout le personnel du laboratoire national de contrôle des médicaments*

*A tout le personnel de la Pharmacie de HALD*

*Au Professeur Isaac Jacob Ndiaye et sa femme tata Awa Coulibaly*

*A tout le personnel de la Pharmacie du Soleil Levant,  
au Docteur Alioune Diouf*

*A tante Fama et famille*

*A Thierno Diallo et sa famille*

*A monsieur Abdoulaye Ndao : sincères remerciements*

*A tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail*



*A notre Maître et Président de jury*

*Monsieur le Professeur Omar NDIR*

*Vous nous avez honoré en acceptant spontanément de présider le jury de notre thèse ; vous avez toujours montré un grand intérêt pour tout ce qui touche notre formation.*

*Vous êtes en cela plus qu'un maître. Veuillez agréer cher Maître nos sincères remerciements.*

*A notre Maître et Directeur de thèse*

*Monsieur Le Professeur Cheikh Saad-Bouh BOYE*

*Vous avez bien voulu nous accepter dans votre laboratoire et vous êtes évertué à nous assurer malgré vos nombreuses occupations un encadrement aussi satisfaisant que possible.*

*Ce travail vous est personnellement dédié.*

*A notre Maître et Juge*

*Monsieur Mamadou BADIANE Maître de conférences agrégées*

*Votre simplicité, vos qualités humaines, vos qualités de pédagogue, expliquent toute l'admiration que nous éprouvons à votre égard.*

*Nous vous sommes très reconnaissants pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger à notre jury de thèse.*

*Veillez accepter l'expression de notre profond respect.*

*A notre Maître et Juge*

*Monsieur Ahmad Iyane SOW Maître de Conférences agrégées*

*La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de porter un regard critique sur ce travail nous a profondément touché.*

*Votre générosité dans l'effort de fournir un enseignement de qualité, votre disponibilité et votre simplicité nous marqueront à jamais.*

*Trouvez ici l'expression de notre profonde estime.*

## Liste des Abréviations

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>ATCC :</b>                  | <b>American Type Control Culture</b>                     |
| <b>E-test :</b>                | <b>Epillometer-test</b>                                  |
| <b>Methi-R :</b>               | <b>Methicilline Resistant</b>                            |
| <b>Methi-S :</b>               | <b>Methicilline Sensible</b>                             |
| <b>MH :</b>                    | <b>Muller Hinton</b>                                     |
| <b>NCCLS :</b>                 | <b>National Control Committee Laboratories Standards</b> |
| <b>CMI :</b>                   | <b>Concentration Minimale Inhibitrice</b>                |
| <b>CCI :</b>                   | <b>Concentration Critique Inférieure</b>                 |
| <b>CCS :</b>                   | <b>Concentration Critique Supérieure</b>                 |
| <b>HALD :</b>                  | <b>Hôpital Aristide Le Dantec</b>                        |
| <b><i>S. aureus :</i></b>      | <b><i>Staphylococcus aureus</i></b>                      |
| <b><i>M. hominis :</i></b>     | <b><i>Mycoplasma hominis</i></b>                         |
| <b><i>U. urealyticum :</i></b> | <b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>                     |

## SOMMAIRE

|   |           |
|---|-----------|
| INTRODUCTION .....  | 1         |
| GENERALITES.....  | 3         |
| I/ DEFINITION DES ANTIBIOTTIQUES.....   | 3         |
| II/ DIFFERENTES METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE.....   | 4         |
| II-1 MACROMETHODE D'ETUDE IN VITRO DE LA SENSIBILITE DES ANTIBIOTIQUES.....                     | 4         |
| II-1-1 Définition de la CMI de l'antibiotique .....   | 5         |
| II-1-1-1 Méthode par dilution en milieu liquide .....   | 6         |
| II-1-1-2 Méthode par dilution en milieu solide.....   | 6         |
| II-1-2 Méthode par diffusion : méthodes des disques.....  | 7         |
| II-1-3 E-test.....  | 8         |
| II-2 MICROMETHODES D'ETUDE <i>IN VITRO</i> DE LA SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES ..... | 9         |
| II-2-1 Méthode utilisant deux concentrations critiques.....                                     | 9         |
| II-2-2 Méthode utilisant une concentration critique .....                                       | 10        |
| II-2-3 Système effectuant une analyse cinétique de la croissance.....                           | 10        |
| II-2-4 Dilution en bouillon .....   | 10        |
| II-2-5 Avantages et inconvénients   | 11        |
| II-2-6 Facteurs influant l'étude la sensibilité aux antibiotiques .....                         | 11        |
| II-2-2-1 Facteurs extrinsèques.....   | 11        |
| II-2-2-2 Facteurs liés à la bactérie.....   | 15        |
| <b>TRAVAIL PERSONNEL .....</b>  | <b>18</b> |
| I/ MATERIEL ET REACTIFS.....  | 18        |
| I-1 SOUCHES BACTERIENNES.....   | 18        |
| I-2 MATERIEL .....  | 18        |
| I-3 REACTIFS.....   | 19        |
| II/ ETUDE DE LA SENSIBILITE.....  | 20        |
| II-1 PRINCIPE.....  | 20        |
| II-2 PREPARATION DES SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUE.....  | 21        |
| II-2-1 Solution de stock .....  | 21        |
| II-2-1-1 Principe.....  | 21        |
| II-2-1-2 Définitions.....   | 22        |
| II-2-1-3 Déshydratation des plaques.....  | 27        |
| II-2-1-4 Préparation de l'inoculum.....   | 27        |
| II-2-1-5 L'inoculation de la plaque .....   | 28        |
| II-2-1-6 Contrôle de qualité .....  | 29        |
| II-2-1-7 Lecture.....   | 29        |
| II-2-1-8 L'interprétation des résultats .....   | 30        |

|  |    |
|--|----|
| <b>RESULTATS</b>   | 34 |
| I/ MISE AU POINT DE LA MICROMETHODE .....  | 34 |
| I-1 STERILITE.....   | 34 |
| I-2 EFFICACITE DU MILIEU.....  | 34 |
| I-3 REPRODUCTIBILITE .....   | 34 |
| I-4 STABILITE.....   | 34 |
| I-4-1 Milieu.....  | 34 |
| I-4-2 Antibiotiques.....   | 35 |
| I-5 AVANTAGES DE CETTE MICROMETHODE .....  | 35 |
| I-6 LES LIMITES DE CETTE MICROMETHODE .....  | 35 |
| II/ RESULTATS DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES ETUDIEES PAR NOTRE<br>MICROMETHODE ..... | 36 |
| II-1 SENSIBILITE DES SOUCHES DE MYCOPLASMES .....                                    | 36 |
| II-1-1 Sensibilité des souches <i>d'U. urealyticum</i> aux antibiotiques.....        | 39 |
| II-1-2 Sensibilité des souches de <i>M. hominis</i> aux antibiotiques .....          | 40 |
| II-1-3 Distribution phénotype de résistance des mycoplasmes .....                    | 41 |
| II-2 RESULTATS DE LA SENSIBILITE DE <i>S. AUREUS</i> .....                           | 42 |
| II-3 RESULTATS DES SOUCHES D'ENTEROBACTERIES.....                                    | 45 |
| 1- Souches.....  | 45 |
| 2- Antibiotiques utilisés.....   | 45 |
| 3- Profil de sensibilité globale des souches d'entérobactéries étudiées.....         | 46 |
| 4- Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des bacilles à Gram (-)...      | 47 |
| III/ RESULTATS DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES ETUDIEES PAR LA<br>METHODE E-TEST.....  | 52 |
| III-1 PROFIL DE SENSIBILITE DES SOUCHES DE <i>S. AUREUS</i> PAR E-TEST..             | 52 |
| III-2 PROFIL DE SENSIBILITE DES SOUCHES D'ENTEROBACTERIES<br>PAR E-TEST.....         | 54 |
| <b>DISCUSSION</b> .....  | 56 |
| I/ ETUDE COMPARATIVE DE METHODES DETUDE DE LA SENSIBILITE.....                       | 56 |
| I-1 AU PLAN TECHNIQUE.....   | 56 |
| I-2 AU PLAN DES RESULTATS.....   | 56 |
| I-3 LES SOUCHES ETUDIEES.....  | 58 |
| II/ DISCUSSION PROPREMENT DITE .....   | 59 |
| II-1 LES MYCOPLASMES UROGENITAUX.....  | 59 |
| II-2 <i>S. AUREUS</i> .....  | 61 |
| II-3 LES ENTEROBACTERIES .....   | 62 |
| <b>CONCLUSION</b> .....  | 65 |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....   | 69 |

## INTRODUCTION

Les bactéries sont des êtres vivants doués des propriétés diverses parmi lesquelles, la capacité d'élaborer des stratégies à même de s'opposer à l'action des antibactériens.

Pour cela, l'utilisation rationnelle des antibiotiques en clinique humaine devrait nécessairement passer par l'étude *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes aux différentes molécules d'antibiotiques. Ceci permettra aux cliniciens d'avoir le choix d'une antibiothérapie de première intention adaptée aux données épidémiologiques locales.

Les différentes techniques utilisées en routine pour l'étude de la sensibilité doivent répondre à plusieurs critères :

- Rapidité d'exécution
- Facilité de réalisation
- Délai de réponse court
- Fiabilité
- Reproductibilité
- Coût peu élevé

Micro CSB a été évalué pour atteindre un certain niveau indispensable à une lutte efficace contre la résistance. Le but de ce travail est de :

- standardiser l'inoculum pour l'étude de la sensibilité
- faire une étude :
  - de la sensibilité des mycoplasmes urogénitaux
  - de la sensibilité des entérobactéries
  - de la sensibilité des *Staphylococcus aureus*

Notre méthode utilise un indicateur coloré (rouge de phénol) pour détecter la croissance des bactéries (assimilant le glucose) contenues dans des cupules de microplaques et en présence de deux concentrations d'antibiotiques : Concentration Critique Supérieure (CCS) et la Concentration Critique inférieure (CCI).

Cette microméthode est une technique à cheval entre la méthode de diffusion et les méthodes automatisées et/ou semi automatisées dont les coûts très élevés ne sont pas à la portée des moyens matériels et financiers dont disposent nos structures.

## GENERALITES

### I/ DEFINITION DES ANTIBIOTIQUES (2,12,16,24)

Les antibiotiques sont, au sens strict, des agents antibactériens naturels d'origine biologique et inhibant la croissance d'autres micro-organismes. Ils sont élaborés par des micro-organismes (champignons et diverses bactéries).

Cependant, avec le développement des méthodes de synthèse et d'hémisynthèse, cette définition trop réduite a été modifiée. On appelle antibiotique « toute substance qui, à faible concentration, inhibe la croissance bactérienne ».

Un antibiotique est donc une substance naturelle (ex : Pénicilline G), semi-synthétique (ex : Ampicilline) ou synthétique (ex : chloramphénicol) douée d'une activité antibactérienne à l'échelon moléculaire s'exerçant au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques ou d'un équilibre physico-chimique.

Les réactions inhibées par les antibiotiques sont surtout des réactions de synthèse :

- synthèse protéique
- synthèse du peptidoglycane
- synthèse des acides nucléiques
- synthèse des folates

Pour être efficace, l'antibiotique doit satisfaire les trois conditions suivantes :

- ✓ pénétration à l'intérieur de la bactérie ;
- ✓ intervention au niveau d'une cible à l'intérieur de cette bactérie ;
- ✓ l'antibiotique ne doit pas être inactivé par des enzymes pouvant être synthétisées par cette bactérie.



L'action de l'antibiotique se traduit alors soit :

- par des modifications de la croissance : dans ce cas l'antibiotique est bactériostatique
- par des modifications de la capacité de survie : dans ce cas l'antibiotique est bactéricide

## **II/ LES DIFFERENTES METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE**

Effectuer un test de sensibilité d'une bactérie suppose disposer d'une souche pure, donc un isolement et une identification de la bactérie incriminée à partir du produit pathologique

### **II-1 MACROMETHODE D'ETUDE *IN VITRO* DE LA SENSIBILITE DES ANTIBIOTIQUES (1, 28)**

La détermination de l'effet bactériostatique et de l'effet bactéricide d'un antibiotique repose sur des faits expérimentaux.

Lorsque l'on met en contact des bactéries avec un antibiotique et que l'on suit la survie bactérienne en fonction du temps, on observe les phénomènes qui diffèrent selon la concentration d'antibiotique :

- Pour les plus basses concentrations (0,5 à 2 $\mu$ g/ml), on observe un ralentissement de la croissance bactérienne, mais à tout moment le nombre de bactéries est supérieur ou égal au nombre initial des bactéries : l'antibiotique exerce alors un effet bactériostatique. Cet effet résulte soit:
  - ✓ d'un ralentissement du temps de division bactérienne,
  - ✓ d'un équilibre entre la croissance normale et la destruction des bactéries

- pour des concentrations plus élevées (4,8 à 16µg/ml), on constate une réduction du nombre de micro-organismes au cours du temps : l'antibiotique exerce un effet bactéricide .

Parfois l'action antimicrobienne est partielle , et après une détermination précoce du nombre de bactéries , on observe une reprise de la croissance bactérienne .

Ce phénomène dit de “**rebond**” peut être dû à :

- une instabilité de l'antibiotique *in vitro* ;
- une hétérogénéité de la population bactérienne qui peut comporter un nombre de bactéries génotypiquement plus résistantes que l'ensemble de la population ;
- une induction d'enzymes conférant une résistance des bactéries à l'antibiotique , exemple : bêta-lactamases.

L'action d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut ainsi être caractérisée par sa concentration minimale inhibitrice.

### **II-1-1 Définition de la CMI d'un antibiotique (1, 24, 28)**

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique inhibant en 18 à 24 heures la multiplication des bactéries (bactériostase). Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories « **sensible** », « **résistante** » ou « **intermédiaire** » à l'action d'un agent antibactérien.

Une souche est dite « **résistante** » à un antibiotique, lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte *in vivo* sans utiliser des doses toxiques.

A l'opposé, une souche est dite « **sensible** » à un antibiotique lorsque sa CMI est nettement inférieure à la concentration sanguine après administration d'une dose utilisable en thérapeutique.

Si la CMI se situe entre ces deux extrêmes, la sensibilité de la souche bactérienne est dite « **intermédiaire** » : les micro-organismes ne pourront pas être atteints avec un antibiotique « **standard** ».

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche bactérienne est réalisée en recourant à une méthode par dilution, par diffusion ou par élution.

Quelle que soit la méthode utilisée, elle doit être effectuée dans des conditions standardisées :

- milieu de culture adéquat choisi en fonction du germe à tester  
ex : milieu de Mueller-Hinton supplémenté en ions ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ )
- inoculum bactérien entre  $10^5$  à  $10^6$  bactéries/ml.

#### II-1-1-1 Méthode par dilution en milieu liquide

On distribue dans un premier temps, dans une série de tubes à hémolyse stériles, sous un même volume des concentrations décroissantes d'antibiotique. Puis on ajoute dans chacun des tubes, sous un même volume, une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance, diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ  $10^6$  bactéries /ml. La CMI de l'antibiotique sur la souche est définie comme la faible concentration inhibant après 18 à 24h de contact à  $37^\circ\text{C}$  toute croissance bactérienne visible à l'œil.

### II-1-1-2 Méthode par dilution en milieu solide

Le principe de la technique en milieu solide est le même que celui de la méthode par dilution en milieu liquide .

Des concentrations croissantes de l'antibiotique sont réalisées et chaque concentration est incorporée à un milieu gélosé.

Des boîtes de Pétri peuvent êtreensemencées avec plusieurs souches bactériennes à l'aide d'un ensemenceur «multipointe ».

La CMI correspond à la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la formation de colonies visibles.

C'est la méthode de référence . Elle permet en outre de tester un grand nombre de souches vis à vis d'un même antibiotique (33).

En pratique on utilise la gélose MH. Son épaisseur doit être de 4mm. Pour les micro-organismes exigeants, on utilise des milieux plus riches (gélose au sang).

L'inoculum bactérien est obtenu à partir d'une souche pure et jeune (culture de 18h).

La concentration finale de l'inoculum varie de  $10^5$  à  $10^6$  bactéries/ml pour les Anaérobies.

L'ensemencement se fait par inondation ou par écouvillonnage . Cependant, ces deux techniques sont très laborieuses et ne sont pas habituellement appliquées à la détermination en « routine » de l'activité d'un grand nombre d'antibiotiques sur une souche bactérienne. Pour cela, on utilise la méthode par diffusion ou méthode par disques.

### **II-1-2 Méthode par diffusion : méthode des disques (24,28,39)**

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie

d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries en phase exponentielle de croissance.

A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).

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

Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur (approchée) de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée. En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur du diamètre d'inhibition de croissance et celle de la CMI. Celle-ci étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces bactériennes différentes.

Il faut signaler que la gélose de Mueller-Hinton doit avoir une épaisseur de 4mm et être séchée avant emploi.

### **II-1-3 E-test (epsillometer test) (1, 27, 30)**

Le E-test est une technique de détermination de la CMI basée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester couvrant une zone continue de 0,016 à 256mg/l ou 0,002 à 32mg/l en fonction des molécules.

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

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

Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par la présence d'une ellipse dont le point d'intersection avec une bandelette qui définit la CMI.

Cette nouvelle méthode de mesure de la CMI présente les avantages des méthodes de diffusion : simplicité, rapidité, large choix des molécules à tester.

Cependant, la mise en place des bandelettes et l'interprétation sont délicates.

## II-2 MICROMETHODES D'ETUDE *IN VITRO* DE LA SENSIBILITE DES GERMES AUX ANTIBIOTIQUES

### II-2-1 Méthode utilisant deux concentrations critiques

Les concentrations en antibiotique qu'il est possible d'obtenir dans l'organisme se définissent par une zone de taux thérapeutique délimitée par deux valeurs critiques exprimées en  $\mu\text{g/ml}$ .

- La concentration critique inférieure (CCI) correspond au taux sanguin moyen obtenu aux posologies habituelles.
- La concentration critique supérieure (CCS) correspond au taux sanguin maximal obtenu par l'administration de fortes doses. Avec cette méthode, on peut interpréter directement les résultats de l'antibiogramme.

En effet, on utilise les concentrations critiques supérieures et inférieures fixées par les comités nationaux d'antibiogramme.

Le résultat obtenu est logique :

- La croissance en présence de la plus forte concentration d'antibiotique est le fait de souches résistantes ;

- La croissance en présence de la plus faible concentration est caractéristique des souches intermédiaires.
- L'inhibition de la croissance aux deux concentrations d'antibiotique est spécifique des souches sensibles.

La lecture se fait à l'œil nu.

### **II-2-2 Méthodes utilisant une concentration critique**

Ces méthodes étudient la croissance de la bactérie en présence d'une seule concentration d'antibiotique adaptée pour discriminer les bactéries sensibles des résistantes. Cette concentration n'est pas liée aux concentrations critiques. L'inoculum bactérien est de  $10^6$  bactéries / ml.

### **II-2-3 Système effectuant une analyse cinétique de la croissance**

L'analyse cinétique de la croissance bactérienne a été la base du premier système d'antibiogramme automatique qui a été commercialisé. Le principe de fonctionnement ne diffère cependant pas fondamentalement des systèmes utilisant une concentration. Les systèmes donnent des réponses précoces et permettent quelques fois l'estimation de la CMI :

- soit en utilisant plusieurs concentrations d'antibiotiques.
- soit en utilisant le calcul spécifique (propre à chaque fabricant).

#### **II-2-4 Dilution en bouillon**

Les méthodes de dilution en bouillon MH pour la détermination de la CMI peuvent être réalisées en plaque de microtitration. Cette microméthode est plus adaptée pour la pratique de l'antibiogramme grâce à une automatisation possible.

Les systèmes pour antibiogramme ont trouvé leur place dans les laboratoires de microbiologie.

Leurs performances sont comparables à celle des technologies conventionnelles. Certains permettent aussi l'obtention rapide de résultats, ce qui assure aux biologistes un suivi plus fiable de leurs patients.

#### **II-2-5 Avantages et inconvénients**

##### ▪ Avantages

Les microméthodes d'étude de la sensibilité présentent plusieurs avantages. Les évaluations récentes des divers systèmes d'antibiogramme automatique montrent que la concordance avec la CMI (méthode de référence) existe dans plus de 85% des cas. Ce pourcentage de concordance peut varier selon le système. Ces microméthodes ont permis de réduire (en tout cas par certains) les délais de réponse.

##### ▪ Inconvénients

Les microméthodes présentent néanmoins des inconvénients :

- seules les bactéries non exigeantes et à croissance rapide peuvent être étudiées par ces méthodes ;
- aucun système actuellement disponible ne mérite au sens strict le qualificatif d'automatique, c'est à dire ne réalise de façon automatique l'ensemble des



phases de la détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne aux antibiotiques.

## **II-2-6 Facteurs influant l'étude de la sensibilité aux antibiotiques**

### **II-2-6-1 Facteurs extrinsèques (24)**

L'étude de l'action des antibiotiques n'obéit pas à une loi physique simple aisément formulable par une équation mathématique. Les phénomènes biologiques complexes qui entrent en jeu dépendent de nombreux paramètres pas toujours indépendants. Il est donc important de standardiser les techniques pour une bonne appréciation de l'activité antibiotique. L'observation rigoureuse des règles régissant l'encadrement des différents facteurs s'avère primordiale pour avoir des résultats fiables.

#### **II-2-6-1-1 L'environnement des cultures**

- **Température d'incubation**

L'élévation de la température entre 37°C et 42°C entraîne une augmentation progressive de l'activité antibiotique.

- **Atmosphère d'incubation**

- **Aéro-anaérobiose**

Certains antibiotiques sont peu influencés (Ex : Chloramphénicol)

- Le pH

Le pH influence l'activité de presque tous les antibiotiques.

Les antibiotiques très actifs en milieu acide sont Pénicillines, Céphalosporines et Tétracyclines.

Les antibiotiques très actifs en milieu alcalin sont les macrolides, les oligosaccharides.

En pratique, dans les tests de routine d'étude de la sensibilité des souches, on travaille en général à un pH proche du pH physiologique.

• Composition du milieu

- Glucides

Les glucides en augmentant la croissance bactérienne et / ou en modifiant le pH (assimilés) peuvent influencer l'action d'un antibiotique.

- Ions

Selon le cas, ils activent ou amplifient l'action de l'antibiotique et / ou la croissance bactérienne. Exemple :  $\text{Ca}^{2+}$  ;  $\text{Mg}^{2+}$

***II-2-6-1-2 L'antibiotique***

Les solutions d'antibiotique doivent être préparées et conservées selon des règles bien établies.

Ainsi, les préparations standards ou de référence obtenues directement sont dissoutes dans un solvant approprié et diluées de façon à obtenir les concentrations désirées. Les solvants et diluants utilisés ne doivent pas inhiber l'action de l'antibiotique. Les antibiotiques doivent être conservés selon les directives du

fabriquant en ce qui concerne les poudres ; pour ce qui est des solutions, elles sont conservées en général à  $-20^{\circ}\text{C}$  ou à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### ***II-2-6-1-3 L'inoculum bactérien***

Plusieurs facteurs tiennent à l'inoculum

- Le nombre de bactériesensemencées
- La phase de croissance de la cultureensemencée
- La vitesse de croissance de la bactérie

- **Nombre de bactériesensemencées**

L'importance de ce facteur varie selon l'antibiotique et selon l'hétérogénéité éventuelle de la population bactérienne : si la population est homogène, les variations de la CMI sont assez faibles pour la plupart des antibiotiques. Exemple : entre  $10^4$  et  $10^6$  bactéries / ml, la CMI varie du simple au double pour les pénicillines, les macrolides. C'est pourquoi on utilise en général un inoculum de  $5 \cdot 10^5$  à  $10^6$  bactéries / ml.

Un inoculum faible ( $10^3$  bactéries / ml) augmente la sensibilité alors qu'un fort ( $>10^6$  bactéries) la diminue fortement.

- **Phase de croissance de l'inoculum**

La phase de croissance dans laquelle se trouve la culture où est prélevé l'inoculum intervient dans l'activité de l'antibiotique. L'action de l'antibiotique en effet est liée à un certain état du métabolisme bactérien. Exemple : la Pénicilline utilise un inoculum en phase de croissance.

#### **II-2-6-1-4 La lecture**

Le temps au bout duquel s'effectue la lecture de même que les procédés d'appréciation (optique ou photométrique) jouent un rôle important dans les tests de sensibilité.

#### **II-2-6-2 Facteurs liés a la bactérie**

##### **II-2-6-2-1 Notion de résistance (1, 24, 35)**

La résistance bactérienne aux antibiotiques, a en effet deux définitions :

**1-** une souche est dite « **résistante** » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est permis d'atteindre *in vivo*.

**2-** une souche est dite « **résistante** » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

##### **II-2-6-2-2 Les types de résistance**

Un micro-organisme peut présenter une résistance naturelle ou acquise vis à vis de certains antibiotiques.

- **Résistance naturelle**

Elle correspond à l'insensibilité de la souche sauvage à l'antibiotique considéré. La résistance naturelle est un caractère chromosomique présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce.

La résistance naturelle est une propriété génétique qui sera transmise de génération en génération (sauf mutation).

- Résistance acquise

Au cours de l'utilisation d'un même antibiotique, une souche peut se révéler résistante par une élévation brutale de la CMI ; on parle de résistance acquise.

Elle n'apparaît donc que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible.

La résistance acquise résulte soit :

- d'une mutation chromosomique
- de l'acquisition d'un ou de plusieurs gènes qui rendent la bactérie insensible à l'antibiotique ; on parle de **résistance plasmidique**.

- Mécanismes de la résistance

#### Production d'enzyme bêta-lactamase

Les bêta-lactamases sont des enzymes d'inactivation du cycle bêta-lactame (structure de base des bêta-lactamines) dont l'hydrolyse entraîne la perte de l'activité antibactérienne. Ces bêta-lactamases sont produites par beaucoup de micro-organismes.

#### Imperméabilisation de la paroi

La structure de la paroi permet de comprendre le mécanisme d'action des antibiotiques de même que le mécanisme de résistance.

La résistance par imperméabilité de la paroi n'est observée que chez les bactéries à Gram négatif, car leur paroi (du fait de sa structure) empêche

naturellement la diffusion des molécules hydrophobes (mécicilline, cloxacilline, fusidine, érythromycine).

#### Modification de la cible PLP

Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP), individualisées dans la membrane cytoplasmique des différentes espèces bactériennes, interviennent dans les stades ultimes de la biosynthèse du peptidoglycane.

Une modification de ces pénicillines et / ou une diminution de l'affinité de ces pénicillines par les antibiotiques permettent à certaines bactéries de rester insensibles à l'action d'un antibiotique. Car pour être actif, l'antibiotique doit se fixer sur une cible.

## TRAVAIL PERSONNEL

### I/ MATERIEL ET REACTIFS

#### I-1 SOUCHES BACTERIENNES

Nous avons travaillé sur les souches suivantes :

- mycoplasmes urogénitaux (*Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*),
- *Staphylococcus aureus*
- et Entérobactéries.

Ces souches ont été conservées à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### I-2 MATERIELS

- Micro pipettes de 10 $\mu\text{l}$ , de 100 $\mu\text{l}$ ,
- Embouts
- Four à micro-onde
- Hotte à flux laminaire
- Tubes à essai pour les dilutions
- Filtres
- Seringues
- Déshydratant
- Balance de précision
- Agitateur magnétique
- Autoclave
- Microplaques

- Papier adhésif
- Support

### I-3 REACTIFS

Les réactifs utilisés sont des solvants, des diluants et des antibiotiques qui appartiennent à différentes familles.

#### **I-3-1 Pour l'étude de la sensibilité des mycoplasmes urogénitaux**

- Erythromycine
- Clarithromycine
- Doxycycline
- Tétracycline
- Ofloxacin
- Ciprofloxacine

#### **I-3-2 Pour l'étude de la sensibilité des *Staphylocoques aureus***

- Pénicilline G
- Erythromycine
- Doxycycline
- Amoxicilline
- Amikacine
- Chloramphénicol
- Ciprofloxacine



### **I-3-3 Pour l'étude de la sensibilité des Entérobactéries**

- Amoxicilline
- Aztréonam
- Ciprofloxacine
- Amikacine
- Céfixime
- Ampicilline
- Doxycycline

## **II/ ETUDE DE LA SENSIBILITE**

### **II-1 PRINCIPE**

L'étude de sensibilité aux antibiotiques va consister à ajouter au milieu (inoculum) deux concentrations critiques d'un antibiotique donné. Après une incubation de 18 à 24 heures, la croissance bactérienne est décelée grâce au virage de l'indicateur coloré (rouge de phénol).

### **II-2 PREPARATION DES SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUE**

#### **II-2-1 Solution de stock**

##### **II-2-1-1 Principe**

Il est basé sur la préparation d'une solution mère 200 fois plus concentrée que la concentration critique supérieure de l'antibiotique dans le solvant considéré.

Un antibiotique est défini comme :

- une substance généralement synthétisée par un micro-organisme, mais souvent modifiée chimiquement ou même synthétisée entièrement par les chimistes.
- une molécule toxique pour un groupe cible de micro-organismes mais peu toxique pour les cellules eucaryotes supérieures, donc utilisable par voie générale.
- une substance de mode d'action spécifique et actif à des concentrations faibles de l'ordre du  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ .

Pour la préparation, les masses à peser dépendent de l'activité des antibiotiques. L'activité d'un antibiotique est la quantité de principe actif en  $\mu\text{g}$  contenu dans 1mg de produit.

|  |
|--|
| $\text{Quantité à peser (mg)} = \frac{V \text{ (ml)} \times C \text{ (mg/ml)}}{\text{Activité } (\mu\text{g/mg})}$ |
|--|

#### II-2-1-2 Définitions

- **CCS** : Concentration critique supérieure

La solution mère contient la quantité requise de produit pour obtenir, par une dilution au  $1/100^{\text{ème}}$  avec le diluant approprié et une dilution ultérieure au  $1/2$  par le milieu utilisé dans la cupule, la CCS.

- **CCI** : Concentration critique inférieure

Elle a été obtenue pour chaque antibiotique en faisant une dilution de la CCS.

Pour les antibiotiques choisis, les concentrations à préparer sont répertoriées dans les tableaux suivants :





**Tableau I** : Préparation des solutions d'antibiotique pour l'étude de la sensibilité des mycoplasmes urogénitaux

| Antibiotiques          | CCI<br>µg/ml<br>(1) | CCS<br>µg/ml<br>(2) | Conc<br>SM<br>g/l<br>(3) | Vol SM<br>(ml) | Assay<br>potency<br>(mg/g)<br>(4) | Masse<br>à peser<br>(mg) | Solvants<br>diluants                                  | Conc ST<br>(CCI) g/l<br>(5) | Conc ST<br>(CCS) g/l<br>(5) | Dilution<br>CCSVCCI<br>(6) | Vol à<br>déshydrater µl<br>(7) |
|------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|----------------|-----------------------------------|--------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <b>Tétracycline</b>    | 4                   | 8                   | 16                       | 1              | 1000                              | 16                       | Eau distillée   | 0,08                        | 0,16                        | 1/2                        | 100                            |
| <b>Doxycycline</b>     | 4                   | 8                   | 16                       | 1              | 1000                              | 16                       | Eau distillée   | 0,08                        | 0,16                        | 1/2                        | 100                            |
| <b>Erythromycine</b>   | 1                   | 4                   | 8                        | 2              | 952                               | 16,8                     | Eau distillée   | 0,02                        | 0,08                        | 1/4                        | 100                            |
| <b>Clarithromycine</b> | 2                   | 8                   | 16                       | 1              | 984                               | 16                       | Méthanol,<br>tampon<br>phosphate<br>pH 6,5 : 0,1<br>M | 0,04                        | 0,16                        | 1/4                        | 100                            |
| <b>Ofloxacine</b>      | 1                   | 4                   | 14                       | 1              | 1000                              | 80 µl                    | Eau distillée   | 0,02                        | 0,08                        | 1/4                        | 100                            |
| <b>Ciprofloxacine</b>  | 1                   | 4                   | 8                        | 2              | 931,6                             | 17,2                     | Eau distillée   | 0,02                        | 0,08                        | 1/4                        | 100                            |

- (1) CI : concentration critique inférieure
- (2) CCS : concentration critique supérieure
- (3) SM : solution mère
- (4) Vérifier l'assay potency pour chaque lot de produit pour en déduire la masse à peser selon la formule

La masse d'antibiotique requise est dissoute dans le volume exigé de solvant stérile pour obtenir la concentration de la solution mère qui est ensuite conditionnée en cryotubes est conservée à  $-70^{\circ}\text{C}$ , cette solution mère est 100 fois plus concentrée que la STCCS. Il faut diluer donc la solution mère au  $1/100^{\text{ème}}$  pour obtenir les STCSS et les STCCI.

ST : solution de travail : diluer les SM au  $1/100^{\text{ème}}$  pour réaliser les concentrations des solutions de travail pour CCS et CCI.

- (5) faire en sorte que les volumes de STCCS et STCCI soient égaux ou très proches pour minimiser les pertes.
- (6) déshydrater le même volume à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures dans les puits des microplaques.

**Tableau II** : Préparation des solutions d'antibiotiques pour l'étude de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*

| Antibiotiques          | CCI (µg/ml) | CCS (µg/ml) | Conc SM g/l | Vol SM (ml) | Masse à peser (mg) | Solvants diluants                                   | Dilutions CCS / CCI | Cons ST CCS (µg/ml) | Cons ST CCI (µg/ml) | Vol à déshydrater µl |
|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| <b>Pénicilline G</b>   | 0,25        | 16          | 3,2         | 1           | 3,2                | Eau distillée                                       | 1/64                | 32                  | 0,5                 | 80                   |
| <b>Ciprofloxacine</b>  | 1           | 2           | 0,4         | 1           | 0,4                | Eau distillée                                       | 1/2                 | 4                   | 2                   | 80                   |
| <b>Erythromycine</b>   | 0,5         | 1           | 2           | 1           | 2                  | Eau distillée                                       | 1/2                 | 8                   | 2                   | 80                   |
| <b>Doxycycline</b>     | 16          | 32          | 6,4         | 1           | 6,4                | Eau distillée                                       | 1/2                 | 64                  | 32                  | 80                   |
| <b>Amikacine</b>       | 4           | 32          | 6,4         | 1           | 6,4                | Eau distillée                                       | 1/8                 | 64                  | 8                   | 80                   |
| <b>Chloramphénicol</b> | 8           | 16          | 3,2         | 1           | 3,2                | Méthanol-<br>eau distillée                          | 1/2                 | 32                  | 16                  | 80                   |
| <b>Amoxicilline</b>    | 4           | 32          | 6,4         | 1           | 6,4                | Tampon<br>phosphate<br>0,1 M (pH6)<br>eau distillée | 1/8                 | 64                  | 8                   | 80                   |

**Tableau III** : Préparation des solutions d'antibiotique pour l'étude de la sensibilité des Entérobactéries

| Antibiotiques         | CCI (µg/ml) | CCS (µg/ml) | Conc SM g/l | Vol SM (ml) | Masse à peser (mg) | Solvants-diluants                        | Dilutions CCS / CCI | Cons ST CCS (µg/ml) | Cons ST CCI (µg/ml) | Vol à déshydrater µl |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|--|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| <b>Amoxicilline</b>   | 16          | 32          | 6,4         | 1           | 6,4                | Tampon phosphate 0,1 M pH6 eau distillée | 1/2                 | 64                  | 32                  | 80                   |
| <b>Aztréonam</b>      | 16          | 32          | 3,2         | 2           | 6,4                | Eau distillée                            | 1/2                 | 64                  | 32                  | 80                   |
| <b>Ciprofloxacine</b> | 1           | 2           | 0,4         | 1           | 0,4                | Eau distillée                            | 1/2                 | 4                   | 2                   | 80                   |
| <b>Amikacine</b>      | 4           | 8           | 1,6         | 2           | 3,2                | Eau distillée                            | 1/2                 | 16                  | 8                   | 80                   |
| <b>Ampicilline</b>    | 4           | 16          | 3,2         | 1           | 6,4                | Tampon phosphate 0,1 M pH8 eau distillée | 1/4                 | 32                  | 16                  | 80                   |
| <b>Céfixime</b>       | 1           | 2           | 2           | 1           | 2                  | Tampon pH8 -eau distillée                | 1/2                 | 4                   | 2                   | 80                   |
| <b>Doxycycline</b>    | 1           | 2           | 0,4         | 1           | 0,4                | Eau distillée                            | 1/2                 | 4                   | 2                   | 80                   |



### II-2-1-3 Déshydratation des plaques

Après rinçage à l'eau savonneuse, les plaques sont trempées dans l'alcool 70°C pendant 24 heures. Les plaques sont ensuite séchées et stérilisées au four à micro-onde.

#### ❖ Pour les Mycoplasmes urogénitaux

100 µl du double de la CCS des antibiotiques et 100 µl de la CCI des antibiotiques donnés ont été respectivement distribuées dans les cupules supérieures (C) et inférieures (c) ou opposées (c) correspondantes selon un ordre bien établi.

#### ❖ Pour les *Staphylococcus aureus* et les Entérobactéries

Ce sont 80 µl du double de la CCS d'un antibiotique donné et 80 µl de la CCI qui sont distribuées dans les cupules supérieures et inférieures ou opposées.

Les plaques sont ensuite portées à l'étuve pendant 24 heures à 37°C.

Les plaques déshydratées et munies d'un support ont été scellées dans des sachets stériles avec un dessiccateur et gardées à l'abri de la poussière.

### II-2-1-4 Préparation de l'inoculum

Pour les Mycoplasmes, l'inoculum est préparé à partir des isolats qu'il faudra diluer au 1/100<sup>ème</sup> en bouillon urée pour *Ureaplasma urealyticum* et en bouillon arginine pour *Mycoplasma hominis* pour obtenir l'inoculum standardisé.

Pour les Staphylocoques et les Entérobactéries, il faut préparer un bouillon MH supplémenté en Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup>.

La formule par litre :

Bouillon MH : 50 g

Glucose : 4 g

Rouge de phénol : 100 mg (ou 5 ml d'une solution à 1%)

Solution de Mg Cl<sub>2</sub> à 25 mg/l : 2,5 ml

Eau distillée qsp : 1000ml

Solution de CaCl<sub>2</sub> à 50 mg/l : 5 ml

pH 7,4 +/- 0,2

Le bouillon contenant le glucose et le rouge de phénol a été autoclavé à 115°C pendant 15mn. Les solutions de MgCl<sub>2</sub> et de CaCl<sub>2</sub> ont été ajoutées au milieu autoclavé après été stérilisées par filtration.

Nous avons préparé une suspension dans de l'eau distillée stérile, nous l'avons ajusté à une opacité équivalente à l'étalon 0,5 Mc FARLAND. Cette suspension a été diluée de façon différente selon le germe :

- Entérobactéries : dilution au 1/1000<sup>ème</sup> (5µl dans 5 ml de milieu).
- *Staphylococcus aureus* : dilution à 1/100<sup>ème</sup> (5µl dans 50 ml de milieu).

### II-2-1-5 Inoculation de la plaque

#### ✓ Mycoplasmes urogénitaux

Nous avons inoculé 100 µl de cette dilution dans des cupules contenant les antibiotiques et 2 cupules servant de témoin de croissance, c'est-à-dire ne contenant pas d'antibiotique.

#### ✓ *Staphylococcus aureus* et Entérobactéries

80 µl de l'inoculum bactérien sont distribués dans chaque cupule.

Nous avons recouvert la plaque de papier adhésif et incubé pendant 18 à 24 heures sous papier buvard imbibé d'eau pour éviter la déshydratation du milieu.

#### II-2-1-6 Contrôle de qualité

- Stérilité

Avant son utilisation, le milieu d'étude de la sensibilité est incubé sans inoculum pendant 24 heures à 37°C.

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

- Efficacité

Elle se traduit par la capacité du milieu à changer de coloration après test avec des souches de référence. (*E. coli* :ATCC 25922 et *S. aureus* :ATCC 29213)

#### II-2-1-7 Lecture

Il s'agira de vérifier la croissance ou l'absence de croissance dans les cupules. Cette croissance, avec les CMI des antibiotiques aidant, nous permettra de catégoriser les souches en souches sensibles, intermédiaires ou résistantes.

#### II-2-1-8 Interprétation des résultats

L'interprétation se fera en fonction de la CMI de l'antibiotique. La CMI est la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible d'un germe en 18- 24 heures.

Elle est encadrée par deux valeurs qui sont : la concentration critique supérieure (C) et la concentration critique inférieure (c).

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* :

- sensible (**S**),
- résistante (**R**)
- intermédiaire (**I**).

Les souches **S** : sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte. Les concentrations utilisées sont inférieures ou égales à la concentration critique inférieure (c).

Les souches **R** : sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique. Les concentrations utilisées sont supérieures à la concentration critique supérieure (C).

Les souches **I** : sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique. La CMI de l'antibiotique testé est comprise entre les deux concentrations critiques.

a) Pour les Mycoplasmes urogénitaux

|                      | $\leq c$ (mg/ml)     | $> C$ (mg/ml)     |
|----------------------|----------------------|-------------------|
| CMI                  | CMI                  | CMI               |
| Souche sensible      | Souche intermédiaire | Souche résistante |
| <b>Antibiotiques</b> |                      |                   |
| Tétracycline         | 4                    | 8                 |
| -                    |                      |                   |
| Doxycycline          | 4                    | 8                 |
| -                    |                      |                   |
| Erythromycine        | 1                    | 4                 |
| -                    |                      |                   |
| Clarithromycine      | 2                    | 8                 |
| -                    |                      |                   |
| Ofloxacine           | 1                    | 4                 |
| --                   |                      |                   |
| Ciprofloxacine       | 1                    | 4                 |
| -                    |                      |                   |

b) Pour les *Staphylococcus aureus*

|                 | CMI                    | $\leq c$ (mg/ml) | CMI                         | $> C$ (mg/ml) | CMI                      |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------------------|---------------|--------------------------|
|                 | <b>Souche sensible</b> |                  | <b>Souche intermédiaire</b> |               | <b>Souche résistante</b> |
|                 | <b>Antibiotiques</b>   |                  |                             |               |                          |
| Pénicilline G   | ---                    | 0,25             | ---                         | -16           | ---                      |
| --              |                        |                  |                             |               |                          |
| Ciprofloxacine  | ---                    | 1                | ---                         | 2             | ---                      |
| Erythromycine   | ---                    | 0,5              | ---                         | 1             | ---                      |
| -               |                        |                  |                             |               |                          |
| Doxycycline     | ---                    | 16               | ---                         | 32            | ---                      |
| -               |                        |                  |                             |               |                          |
| Amikacine       | ---                    | 4                | ---                         | 32            | ---                      |
| --              |                        |                  |                             |               |                          |
| Chloramphénicol | ---                    | 8                | ---                         | 16            | ---                      |
| --              |                        |                  |                             |               |                          |
| Amoxicilline    | ---                    | 4                | ---                         | 32            | ---                      |
| -               |                        |                  |                             |               |                          |

c) Pour les Entérobactéries

|                | CMI                         | $\leq c$ (mg/ml) | CMI                         | $> C$ (mg/ml) | CMI                      |
|----------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|---------------|--------------------------|
|                | <b>Souche sensible</b>      |                  | <b>Souche intermédiaire</b> |               | <b>Souche résistante</b> |
|                | <b><u>Antibiotiques</u></b> |                  |                             |               |                          |
| Amoxicilline   | ----- 16                    |                  |                             | ----- 32      | -----                    |
| -              |                             |                  |                             |               |                          |
| Aztréonam      | ----- 4                     |                  |                             | ----- 32      | -----                    |
| -              |                             |                  |                             |               |                          |
| Ciprofloxacine | ----- 1                     |                  |                             | ----- 2       | -----                    |
| --             |                             |                  |                             |               |                          |
| Amikacine      | ----- 4                     |                  |                             | ----- 8       | -----                    |
| -              |                             |                  |                             |               |                          |
| Ampicilline    | ----- 4                     |                  |                             | ----- 32      | -----                    |
|                |                             |                  |                             |               |                          |
| Doxycycline    | ----- 1                     |                  |                             | ----- 2       | -----                    |
| --             |                             |                  |                             |               |                          |
| Céfixime       | ----- 1                     |                  |                             | ----- 2       | -----                    |

## **RESULTATS**

### **I/ MISE AU POINT DE LA MICROMETHODE**

#### **I-1 STERILITE**

Le milieu nouvellement préparé fait l'objet d'un test de stérilité, s'il y a virage de l'indicateur coloré du rouge au jaune dans la cupule « **témoin** » non ensemencée, le milieu est éliminé ou considéré comme non stérile.

#### **I-2 EFFICACITE DU MILIEU**

Le milieu considéré comme stérile a été soumis à un contrôle d'efficacité.

Nous avons constaté que les milieux préparés selon les normes décrites dans la deuxième partie, passaient du rouge au jaune en présence des bactéries attaquant le glucose.

#### **I-3 REPRODUCTIBILITE**

Ce test de reproductibilité a été effectué avec deux souches de l'ATCC : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Ces souches ont été testées chaque fois que des solutions d'antibiotique ont été préparées.

#### **I-4 STABILITE**

##### **I-4-1 Milieu**

Milieu préparé et conservé à 4°C est resté stable pendant longtemps. Les contrôles de stérilité et d'efficacité ont été satisfaisants.



### **I-4-2 Antibiotiques**

Nous avons suivi les directives du fabricant en ce qui concerne la conservation des poudres.

Les solutions mères restent stables à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 6 mois pour la plupart des antibiotiques utilisés en 6 semaines à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour l'amoxicilline et l'ampicilline.

### **I-5 LES AVANTAGES DE CETTE MICROMETHODE**

- Coût peu élevé
- Miniaturisation : elle permet en effet d'utiliser de petites quantités de produit et réactifs.
- Lecture facile
- Interprétation directe des résultats

### **I-6 LES LIMITES DE CETTE MICROMETHODE**

- La dilution extemporanée des antibiotiques augmente considérablement la durée de la manipulation.
- La méthode mise au point ne permet pas de détecter les phénomènes de synergie ou d'antagonisme.
- Elle est destinée aux bactéries fermentaires ( en général), or l'étude n'a porté que sur les entérobactéries, les mycoplasmes urogénitaux et les staphylocoques dorés.
- L'antibiogramme est limité par le nombre de cupules présentes dans la microplaque.

## II/ RESULTATS DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES ETUDIEES PAR NOTRE MICROMETHODE

### II-1 SENSIBILITE DES SOUCHES DE MYCOPLASMES AUX ANTIBIOTIQUES

Nous avons eu à tester 25 souches dont :

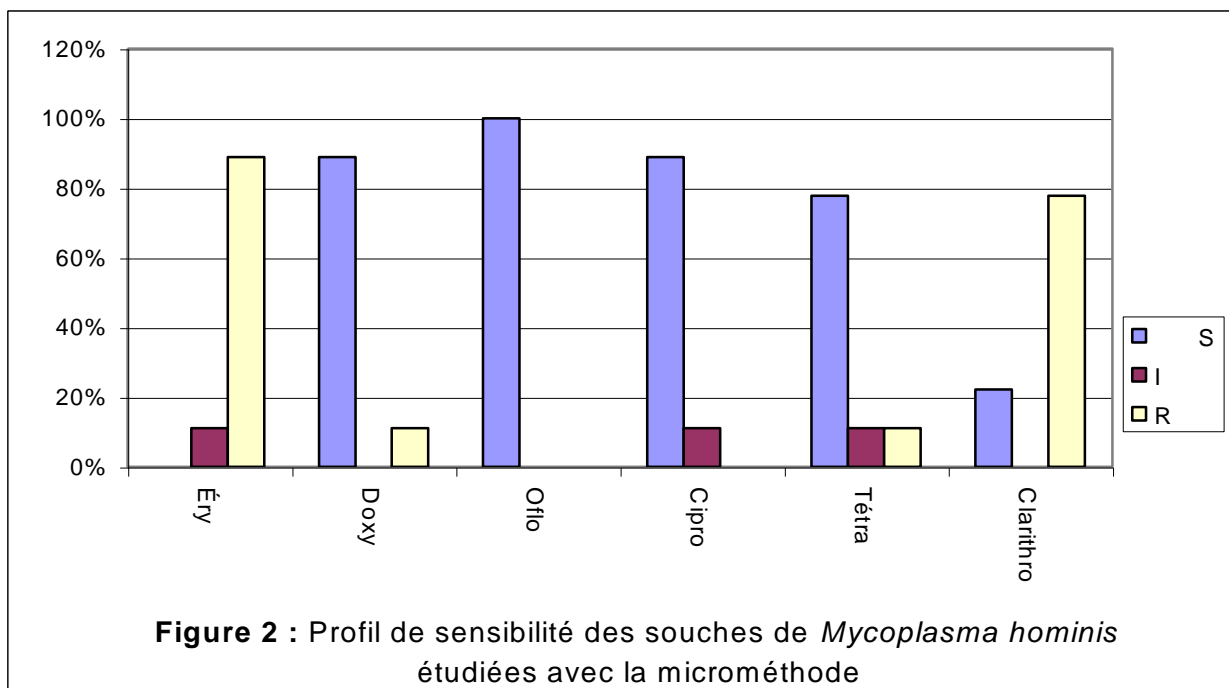
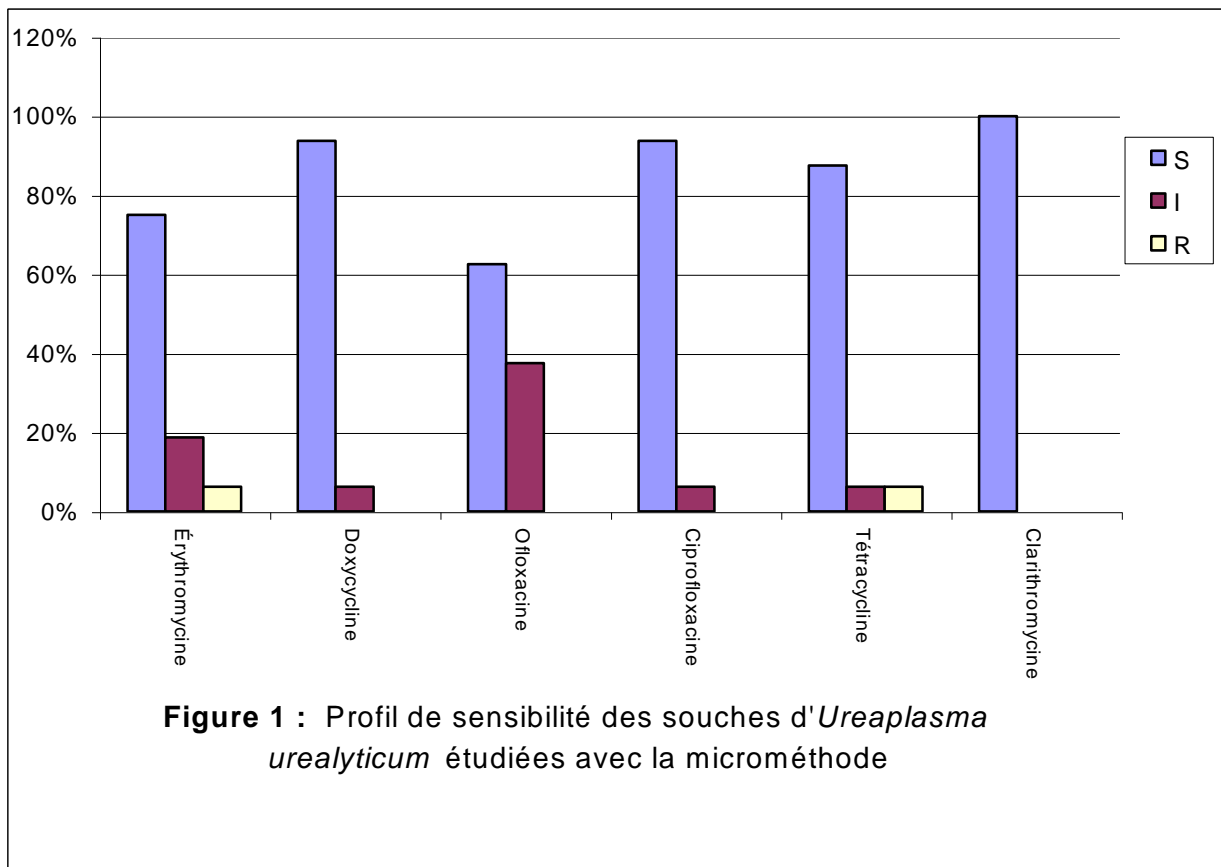
- 16 souches d'*Ureaplasma urealyticum*
- 09 souches de *Mycoplasma hominis*

Les souches ont été sélectionnées du lot de souches identifiées isolées et titrées. Nous avons choisi des isolats dont le titre est supérieur ou égal à  $10^5$  UCC/ml afin de respecter les normes de l'antibiogramme des mycoplasmes.

Six antibiotiques appartenant à trois familles différentes (les cyclines, les macrolides, les quinolones) ont été testés et pour chacun d'entre eux, nous avons déterminé les concentrations critiques inférieures et supérieures, le nombre et le pourcentage de souches sensibles, intermédiaires et résistantes des mycoplasmes.

**Tableau IV** : Profil de sensibilité des souches de mycoplasmes

|                 | <i>Ureaplasma urealyticum</i> |        |    |        |    |       | <i>Mycoplasma hominis</i> |        |    |        |    |        |
|-----------------|-------------------------------|--------|----|--------|----|-------|---------------------------|--------|----|--------|----|--------|
|                 | S                             | %      | I  | %      | R  | %     | S                         | %      | I  | %      | R  | %      |
| Érythromycine   | 12                            | 75%    | 03 | 18,75% | 01 | 6,25% | 00                        | 0%     | 01 | 11,10% | 08 | 88,90% |
| Doxycycline     | 15                            | 93,75% | 01 | 6,25%  | 00 | 0%    | 08                        | 88,90% | 00 | 0%     | 01 | 11%    |
| Ofloxacine      | 10                            | 62,50% | 06 | 37,50% | 00 | 0%    | 09                        | 100%   | 00 | 0%     | 00 | 0%     |
| Ciprofloxacine  | 15                            | 93,75% | 01 | 6,25%  | 00 | 0%    | 08                        | 88,90% | 01 | 11,10% | 00 | 0%     |
| Tétracycline    | 14                            | 87,50% | 01 | 6,25%  | 01 | 6,25% | 07                        | 77,80% | 01 | 11,10% | 01 | 11,10% |
| Clarithromycine | 16                            | 100%   | 00 | 0%     | 00 | 0%    | 02                        | 22,20% | 00 | 0%     | 07 | 77,80% |



### **II-1-1 Sensibilité des souches d'*Ureaplasma urealyticum* aux Antibiotiques**

- **Les quinolones**

Les quinolones étudiées ici sont la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Pour la ciprofloxacine, nous avons 93,70% de souches sensibles (15 souches), 6,30% de souches intermédiaires (1 souche) et une résistante nulle.

Quant à l'ofloxacine, 62,50% des souches sont sensibles (10 souches) 37,50% de souches intermédiaires (6 souches) et pas de souches résistantes.

- **Les cyclines**

La doxycycline a les pourcentages suivants : 93,70% de souches sensibles (15 souches) et 6,25% (1 souche) de souches intermédiaires et pas de résistance.

Pour la tétracycline, on a : 87,50% de souches sensibles (14 souches), 6,25% de souches intermédiaires (1 souche) et 6,25% de souches résistantes (1 souche).

On peut dire que la doxycycline a montré une meilleure activité. La doxycycline est 4 fois plus efficace que la tétracycline :

$CMI_{50/90}$  (tétra) = 1  $\mu$ g/ml et 2  $\mu$ g/ml

$CMI_{50/90}$  (doxy) = 0,25  $\mu$ g/ml et 0,50  $\mu$ g/ml

Une augmentation de la résistance des mycoplasmes à la tétracycline a été notée. Cette résistance est due à l'acquisition par les mycoplasmes du gène T et (M) qui est un déterminant récemment acquis chez les mycoplasmes.

- **Les macrolides**

L'érythromycine a donné 75% de souches résistantes (12 souches), 18,75% de souches intermédiaires (3souches) et 6,25% de souches résistantes (1 souche).

La clarithromycine est apparue très active sur *Ureaplasma urealyticum* avec un taux de 100% (16 souches).

### **II-1-2 Sensibilité des souches de *Mycoplasma hominis* aux antibiotiques**

- **Quinolones ( ciprofloxacine, ofloxacine)**

Nous avons noté une absence de souches résistantes. Nous avons eu 100% de souches sensibles (9souches).

- **Les cyclines**

Les souches de *Mycoplasma hominis* dans l'ensemble ont été sensibles à la Doxycycline et à la tétracycline.

La doxycycline a une meilleure activité (88,90%) (8 souches) par rapport à la tétracycline (77,70%) (7 souches).

Nous avons noté 11,10% de souches résistantes (1 souche) à la tétracycline 11,10% de souches intermédiaires (1 souche).

La doxycycline est 2 à 4 fois plus efficace que la tétracycline.

$CMI_{50/90}$  (tétra) = 0,50 $\mu$ g/ml et 8 $\mu$ g/ml

$CMI_{50/90}$  (doxy) = 0,125 $\mu$ g/ml et 4 $\mu$ /ml

- **Les macrolides**

L'érythromycine est inactive sur *Mycoplasma hominis*. Nous avons noté une résistance de 88,90% (8 souches) et les souches intermédiaires ont un pourcentage de 11,10% (1 souche).

Quant à la clarithromycine, nous avons obtenu 77,70% de souches résistantes (7 souches) et 22,30% de souches sensibles (2 souches).

### **II-1-3 Distribution des phénotypes de résistance des mycoplasmes**

- *Mycoplasma hominis*

Nous avons effectué une répartition des phénotypes de résistance aux différents antibiotiques étudiés : tétracycline, doxycycline, ciprofloxacine, érythromycine clarithromycine et ofloxacine

La répartition des phénotypes de résistance des souches de *M. hominis* aux macrolides a montré une plus grande fréquence du phénotype E par rapport au phénotype L.

Une souche a développé le phénotype EL et a été résistante à la tétracycline et à la doxycycline (1TDEL).

- *Ureaplasma urealyticum*

La répartition des phénotypes de résistance des souches de *U. urealyticum* aux macrolides a montré une plus grande fréquence du phénotype L par rapport au phénotype E.

Parmi les 8 souches résistantes à l'érythromycine, nous avons deux qui ont développé le phénotype D (2TDL) et une qui est résistante à la doxycycline et la à tétracycline

## **II-2 RESULTATS DE LA SENSIBILITE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

Nous avons eu à travailler sur 25 souches de *Staphylococcus aureus*. Les souches ont été conservées à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Les souches se sont toutes révélées Méthi-S

Les souches sont réisolées et ceci nous a permis d'étudier leur sensibilité.

Les antibiotiques utilisés appartiennent à différentes familles. Nous avons :

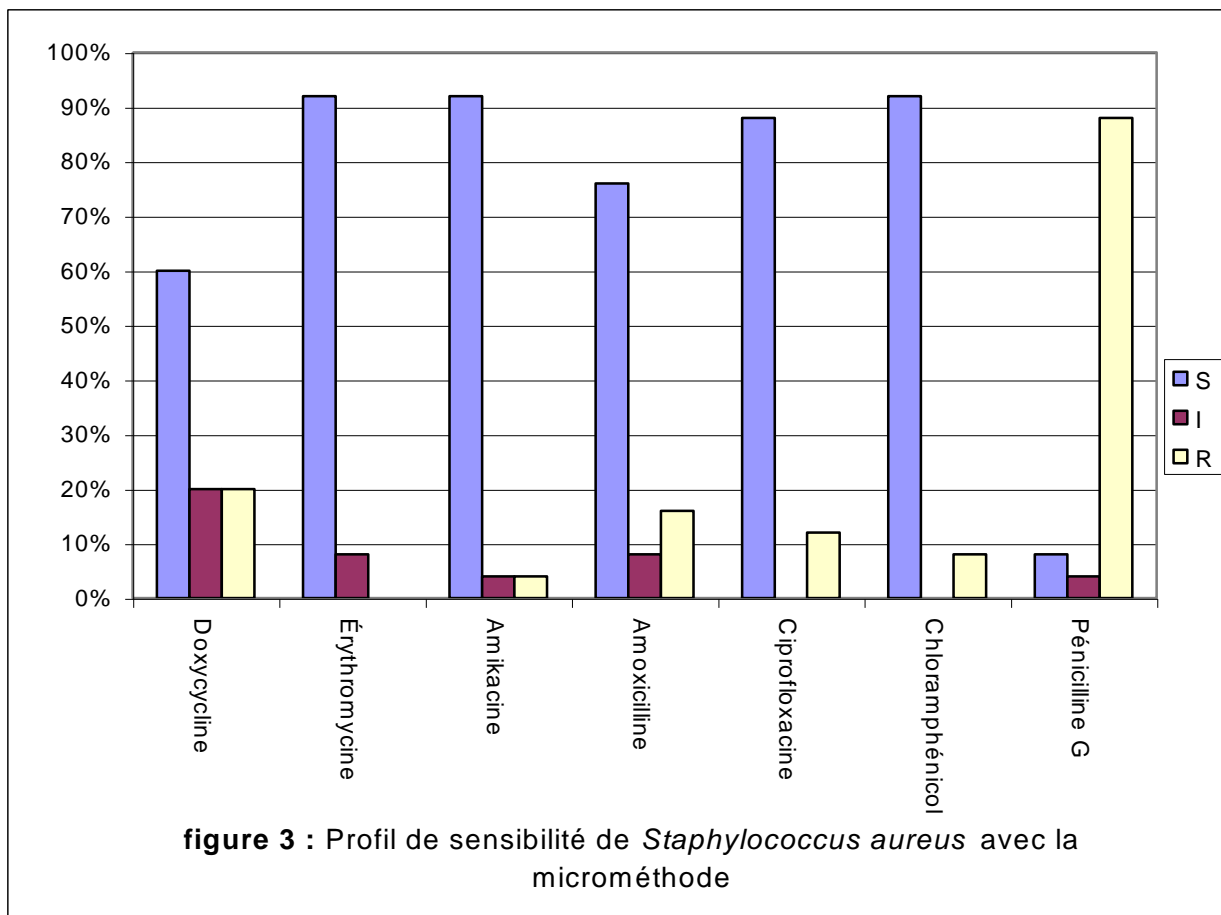
- les aminopénicillines : Amoxicilline

- les aminoside : Amikacine
- les phénicolés : Chloramphénicol
- les macrolides : Erythromycine
- les quinolones : Ciprofloxacine
- les cyclines : Doxycycline
- les Pénicillines : Pénicilline G

Nous avons eu à tester la méthicillino-résistance et toutes les souches se sont révélées méthi-S.

**Tableau V** : Profil de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus*

|                 | <i>Staphylococcus aureus</i> |          |          |          |          |          |
|-----------------|------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                 | <b>S</b>                     | <b>%</b> | <b>I</b> | <b>%</b> | <b>R</b> | <b>%</b> |
| Doxycycline     | 15                           | 60%      | 05       | 20%      | 05       | 20%      |
| Érythromycine   | 23                           | 92%      | 02       | 8%       | 00       | 0%       |
| Amikacine       | 23                           | 92%      | 01       | 4%       | 01       | 4%       |
| Amoxicilline    | 19                           | 76%      | 02       | 8%       | 04       | 16%      |
| Ciprofloxacine  | 22                           | 88%      | 00       | 0%       | 03       | 12%      |
| Chloramphénicol | 23                           | 92%      | 00       | 0%       | 02       | 8%       |
| Pénicilline G   | 02                           | 8%       | 01       | 4%       | 22       | 88%      |



- **La pénicilline G**

Nous avons obtenu 88% de résistance ; 4% des souches sont révélées intermédiaires et 8% des souches sont sensibles.

- **L'érythromycine**

L'érythromycine conserve une bonne activité sur nos souches avec une inhibition de 92%.

- **L'amikacine**

Bonne activité avec une sensibilité de 92% . Les souches résistantes et intermédiaires ont des pourcentages de 4% chacun.

- **L'amoxicilline**

76% de sensibilité, 16% de résistance et 2% de souches intermédiaires



- **La ciprofloxacine**

88% de sensibilité, 12% de résistance.

- **Le chloramphénicol**

L'activité de cet antibiotique est bonne avec 92% de sensibilité. La résistance est de 8%.

- **La doxycycline**

Une efficacité de 60% a été notée tandis que le pourcentage des souches résistantes et intermédiaires est de 20%.

## II-3 RESULTATS DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES D'ENTEROBACTERIES

Sur les 16 souches avec lesquelles, nous avons travaillé, les espèces testées sont :

### 1) Souches

| <b>Souches</b>               | <b>Nombre</b> |
|------------------------------|---------------|
| <i>Escherichia coli</i>      | 06            |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 04            |
| <i>Salmonella typhi I</i>    | 01            |
| <i>Proteus mirabilis</i>     | 01            |
| <i>Providencia</i>           | 01            |
| <i>Proteus vulgaris</i>      | 01            |
| <i>Citrobacter freundii</i>  | 01            |
| <i>Enterobacter cloacae</i>  | 01            |

Les souches ont été conservées à  $-70^{\circ}\text{C}$ . avant leur utilisation, elles ont été réisolées.

## 2) Antibiotiques utilisés

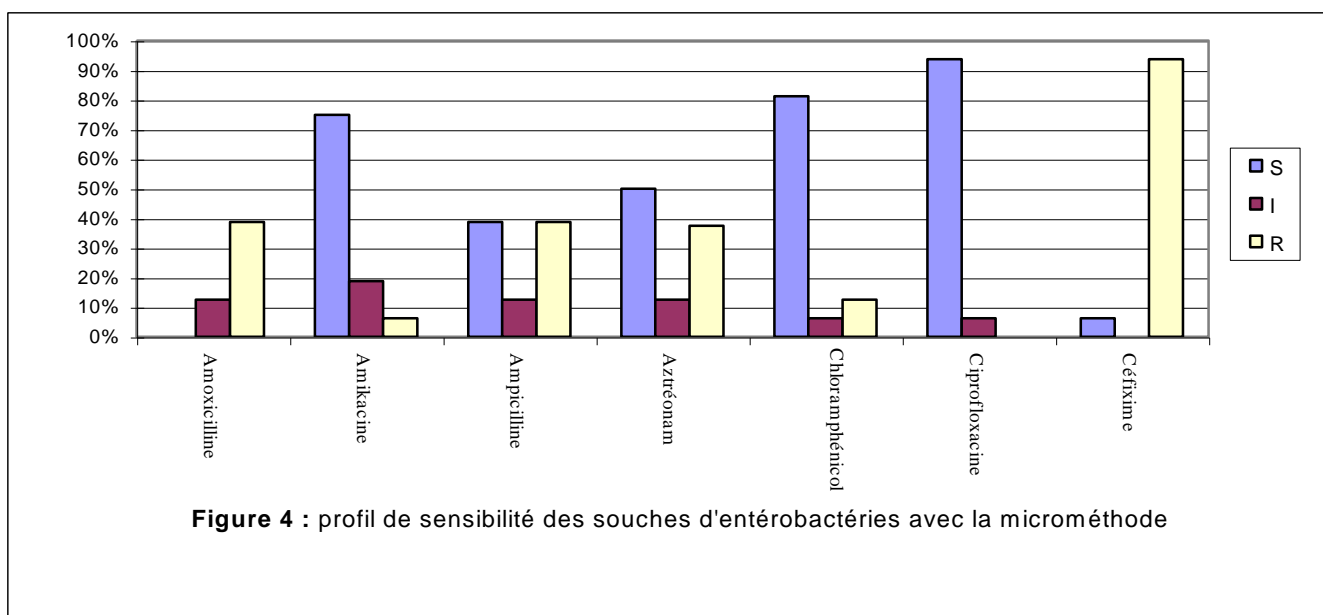
Pour cette étude de sensibilité 7 antibiotiques ont été utilisés :

- Aminopénicillines : amoxicilline, ampicilline
- Quinolones : ciprofloxacine
- Monobactames : aztréonam
- Céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération : céfixime
- Phénicolés : chloramphénicol
- Aminosides : amikacine

## 3) Profil de sensibilité global des souches d'Entérobactéries étudiées

**Tableau VI** : Profil de sensibilité global des souches d'Entérobactéries étudiées

|                 | Entérobactéries |        |   |        |    |        |
|-----------------|-----------------|--------|---|--------|----|--------|
|                 | S               | %      | I | %      | R  | %      |
| Amoxicilline    | 7               | 38,80% | 2 | 12,50% | 7  | 38,80% |
| Amikacine       | 12              | 75%    | 3 | 18,75% | 1  | 6,25%  |
| Ampicilline     | 7               | 38,80% | 2 | 12,50% | 7  | 38,80% |
| Aztréonam       | 8               | 50%    | 2 | 12,50% | 6  | 37,50% |
| Chloramphénicol | 13              | 81,25% | 1 | 6,25%  | 2  | 12,50% |
| Ciprofloxacine  | 15              | 93,75% | 1 | 6,25%  | 0  | 0%     |
| Céfixime        | 1               | 6,25%  | 0 | 0%     | 15 | 93,75% |



Les aminopénicillines telles que l'amoxicilline et l'ampicilline ont montré une sensibilité faible de 38,80% et une résistance de 38,80%.

12,50% de nos souches se sont révélées intermédiaires.

Quant à l'amikacine, le chloramphénicol et la ciprofloxacine leur activité a été bonne avec respectivement 75% ; 81,25% et 93,75% de sensibilité.

La ciprofloxacine n'a montré aucune résistance mais 6,25% des souches se sont révélées intermédiaires.

Quant à la céfixime, elle s'est montrée résistante presque à toutes les souches avec 93,75% comme pourcentage de résistance .

Seuls 6,25% des souches ont été sensibles à la céfixime.

#### **4) Phénotypes de résistance et profil de sensibilité des bacilles à Gram négatif**

##### *4-1 Escherichia coli*

Les souches ont montré une bonne sensibilité avec l'amikacine, le chloramphénicol et le ciprofloxacine.

Par contre une résistance a été notée avec l'amoxicilline, l'ampicilline, l'aztréonam et le céfixime.

|                 | <b>S</b> | <b>I</b> | <b>R</b> |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Amoxicilline    | 1        | 1        | 4        |
| Amikacine       | 5        | 0        | 1        |
| Ampicilline     | 2        | 0        | 4        |
| Aztréonam       | 2        | 0        | 4        |
| Chloramphénicol | 5        | 0        | 1        |
| Ciprofloxacine  | 6        | 0        | 0        |
| Céfixime        | 1        | 0        | 5        |

Parmi les 6 souches étudiées 4 sont résistantes à la fois à l'amoxicilline, à l'ampicilline et au céfixime. Nous avons donc une résistance aux aminopénicillines décrivant ainsi le phénotype « pénicillinase haut niveau ou PHN ».

Deux de nos souches sont des souches sauvage.

**Tableau VII** : Profil de résistance des phénotypes des souches de *E. coli* testées

| Antibiotiques<br>Nombre de souches | Amox | Ampi | Amk | Azt | Chloram | Cipro | Céfix |
|------------------------------------|------|------|-----|-----|---------|-------|-------|
|                                    | 4    |      |     |     |         |       |       |
| 1                                  |      |      |     |     |         |       |       |
| 1                                  |      |      |     |     |         |       |       |

#### 4-2 *Proteus*

Les souches de *proteus* ne sont pas des phénotypes sauvages car secrétant une pénicillinase et une céphalosporinase.

|                 | <i>Proteus vulgaris</i> | <i>Proteus mirabilis</i> |
|-----------------|-------------------------|--------------------------|
| Amoxicilline    | R                       | R                        |
| Amikacine       | I                       | I                        |
| Ampicilline     | R                       | I                        |
| Aztréonam       | S                       | S                        |
| Chloramphénicol | R                       | S                        |
| Ciprofloxacine  | S                       | S                        |
| Céfixime        | R                       | R                        |

#### 4-3 *Salmonella tufhi I*

Cette souche est de phénotype sauvage.

|                 |   |
|-----------------|---|
| Amoxicilline    | S |
| Amikacine       | S |
| Ampicilline     | R |
| Aztréonam       | R |
| Chloramphénicol | S |
| Ciprofloxacine  | S |
| Céfixime        | R |

#### 4-4 *Klebsiella pneumoniae*

Toutes les souches sont résistantes aux aminopénicillines. Il s'agit d'ailleurs d'une résistance naturelle. Nous avons affaire à des souches sauvages.

La ciprofloxacine a agi très efficacement sur les *klebsielles* en inhibant toutes les souches.

Une résistance a été notée avec la céfixime sur toutes les souches.

|                 | <b>S</b> | <b>I</b> | <b>R</b> |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Amoxicilline    | 0        | 1        | 3        |
| Amikacine       | 4        | 0        | 0        |
| Ampicilline     | 0        | 0        | 4        |
| Aztréonam       | 2        | 1        | 1        |
| Chloramphénicol | 0        | 0        | 0        |
| Ciprofloxacine  | 4        | 0        | 0        |
| Céfixime        | 0        | 0        | 4        |

**Tableau VIII** : Phénotype de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* étudiées

| Antibiotiques<br>Nombre de souches | Amox | Ampi | Amk | Azt | Chloram | Cipro | Céfix |
|------------------------------------|------|------|-----|-----|---------|-------|-------|
| 3                                  |      |      |     |     |         |       |       |
| 1                                  |      |      |     |     |         |       |       |

#### 4-5 *Enterobacter cloacae*

La souche est sécrétrice d'une bêta-lactamine à spectre élargi

|                 |   |
|-----------------|---|
| Amoxicilline    | R |
| Amikacine       | S |
| Ampicilline     | R |
| Aztréonam       | S |
| Chloramphénicol | S |
| Ciprofloxacine  | S |
| Céfixime        | R |

#### 4-6 *Citrobacter freundii*

La souche est sauvage donc non productrice de bêta-lactamases

|                 |   |
|-----------------|---|
| Amoxicilline    | S |
| Amikacine       | S |
| Ampicilline     | S |
| Aztréonam       | I |
| Chloramphénicol | I |
| Ciprofloxacine  | S |
| Céfixime        | R |

#### 4-7 *Providencia*

|                 |   |
|-----------------|---|
| Amoxicilline    | S |
| Amikacine       | R |
| Ampicilline     | I |
| Aztréonam       | S |
| Chloramphénicol | S |
| Ciprofloxacine  | I |
| Céfixime        | R |

### **III/ RESULTATS DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES ETUDIEES PAR LA METHODE E-TEST**

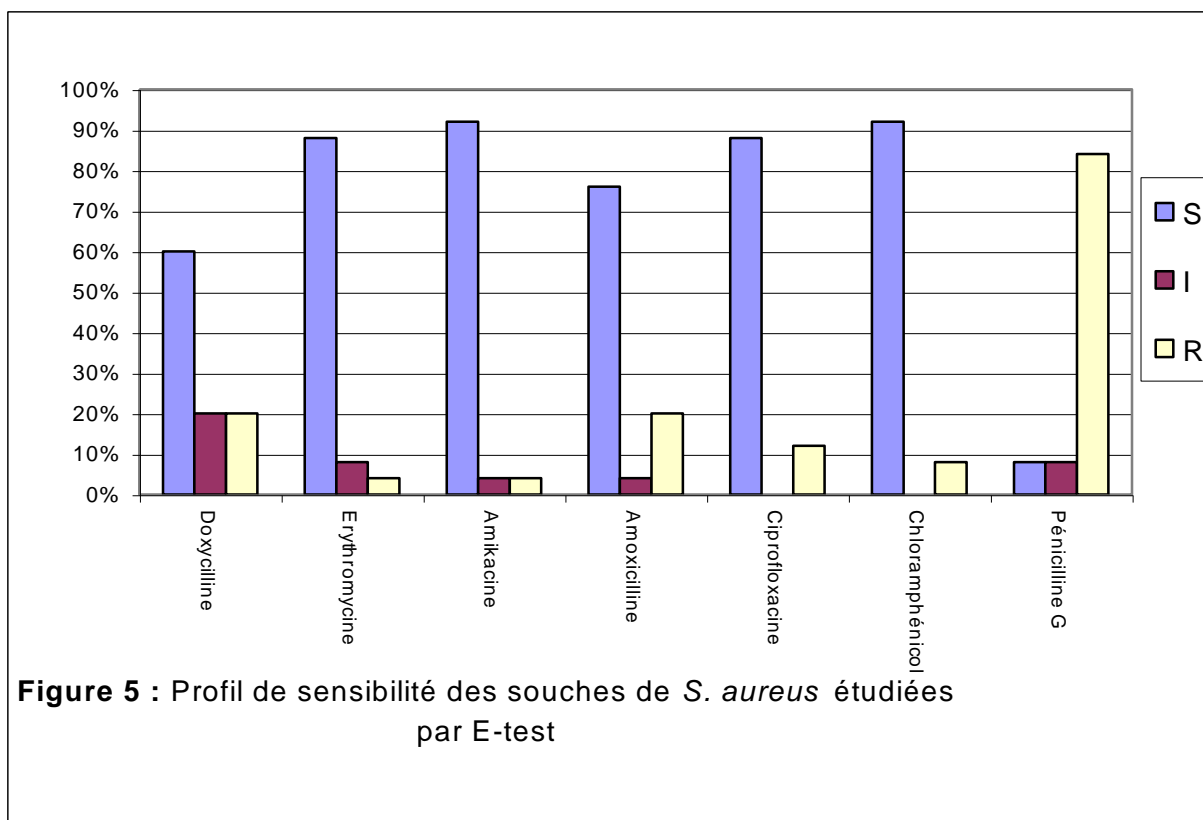
Les souches de *S. aureus* et d'entérobactéries sur lesquelles nous avons travaillé sont des souches dont le profil de sensibilité avait déjà été étudié par E-test.

Dès lors une étude comparée s'impose et ceci afin de s'assurer d'une éventuelle concordance ou discordance.

#### **III-1 PROFIL DE SENSIBILITE DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS PAR E-TEST**

**Tableau VIII** : Profil de sensibilité des *S. aureus* étudiées par E-test

| <b>Antibiotiques</b> | <b>S</b> | <b>%</b> | <b>I</b> | <b>%</b> | <b>R</b> | <b>%</b> | <b>CMI(µg/ml)</b> |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------------|
| Doxycycline          | 15       | 60%      | 05       | 20%      | 05       | 20%      | 16 – 32           |
| Erythromycine        | 22       | 88%      | 02       | 8%       | 01       | 4%       | 0,5 – 1           |
| Amikacine            | 23       | 92%      | 01       | 4%       | 01       | 4%       | 4 – 32            |
| Amoxicilline         | 19       | 76%      | 01       | 4%       | 05       | 20%      | 4 – 32            |
| Ciprofloxacine       | 22       | 88%      | 00       | 0%       | 03       | 12%      | 1 – 2             |
| Chloramphénicol      | 23       | 92%      | 00       | 0%       | 02       | 8%       | 8 – 16            |
| Pénicilline G        | 02       | 8%       | 02       | 8%       | 21       | 8%       | 0,25 – 16         |



L'interprétation de la méthode E-test se fait en fonction des valeurs des CMI des différents antibiotiques.

Une concordance de résultats est obtenue avec les antibiotiques tels que la doxycycline, l'érythromycine, l'amikacine, la ciprofloxacine et le chloramphénicol.

Cependant, des discordances ont été notées avec l'amoxicilline car : cinq de nos souches sont résistantes à l'amoxicilline avec la méthode du E-test et une souche seulement a présenté une résistance intermédiaire alors qu'avec la microméthode nous avons 5 souches qui se sont montrées résistantes et 2 souches intermédiaires, cela veut tout simplement dire qu'une souche qui s'est révélée intermédiaire avec la microméthode, s'est montrée résistante avec le E-test.

La même situation s'est présentée avec la pénicilline G où une souche résistante avec la microméthode s'est révélée intermédiaire avec la méthode du



E-test ; ceci est peut-être dû à la présence d'ions dans le milieu utilisé et aux conditions de conservation des solutions mères d'antibiotique.

### III-2 PROFIL DE SENSIBILITE DES SOUCHES D'ENTEROBACTERIES ETUDIEES PAR E-TEST

Concernant les entérobactéries, nous avons eu le profil de sensibilité par E-test d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

Pour *Escherichia coli*, nous avons obtenu avec le E-test, les profils suivants :

#### *Escherichia coli*

| <b>Antibiotiques</b> | <b>S</b> | <b>I</b> | <b>R</b> |
|----------------------|----------|----------|----------|
| Amoxicilline         | 1        | 1        | 4        |
| Amikacine            | 4        | 1        | 1        |
| Ampicilline          | 2        | 0        | 4        |
| Aztréonam            | 2        | 0        | 4        |
| Chloramphénicol      | 4        | 1        | 1        |
| Ciprofloxacine       | 6        | 0        | 0        |
| Céfixime             | 1        | 0        | 5        |

Pour les antibiotiques comme l'amoxicilline, l'ampicilline, l'aztréonam la ciprofloxacine et la céfixime le profil de sensibilité des souches est le même avec les deux méthodes (microméthode et E-test).

En ce qui concerne l'amikacine, nous avons eu 4 souches sensibles, une souche intermédiaire et une souche résistante.

Nous avons noté une souche qui s'est révélée intermédiaire par le E-test et sensible avec la microméthode.

Le chloramphénicol a donné 4 souches sensibles et une souche intermédiaire. Alors qu'avec la microméthode nous avons eu 5 souches sensibles.

Ceci s'expliquerait par le fait que nous avons une souche qui s'est montrée sensible avec la microméthode s'est révélée intermédiaire avec la méthode du E-test. Mais les discordances observées au niveau des résultats ne sont pas d'une grande importance et peuvent être qualifiées de discordances mineures.

*Klebsiella pneumoniae*

| <b>Quantité</b> | <b>S</b> | <b>I</b> | <b>R</b> |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Amoxicilline    | 3        | 1        | 0        |
| Amikacine       | 4        | 0        | 0        |
| Ampicilline     | 4        | 0        | 0        |
| Aztréonam       | 2        | 1        | 1        |
| Chloramphénicol | 4        | 0        | 0        |
| Ciprofloxacine  | 4        | 0        | 0        |
| Céfixime        | 0        | 0        | 4        |

Pour le profil de sensibilité de *Klebsiella pneumoniae*, les résultats ont été concordants à 100% avec les deux méthodes d'étude ; aucune discordance n'a été notée et cela avec des CMI très basses.

## DISCUSSION

### I/ ETUDE COMPARATIVE DE METHODES DETUDE DE LA SENSIBILITE

L'étude comparative conduit à différents types de remarques aussi bien au plan technique qu'au plan des résultats.

#### I-1 AU PLAN TECHNIQUE

La réalisation de l'antibiogramme par la microméthode est plus longue que celle du E-test.

En effet, la préparation extemporanée des concentrations critiques est une étape longue et fastidieuse.

Cependant la préparation extemporanée des solutions d'antibiotiques permet d'une part : de choisir minutieusement les antibiotiques à tester et d'autre part, d'assurer une plus grande des antibiotiques utilisés donc une plus grande efficacité.

Au niveau de l'interprétation des résultats, la microméthode permet d'emblée une catégorisation clinique.

#### I-2 AU PLAN DES RESULTATS

Les souches de référence de *Escherichia coli* ATCC 25922 et de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ont été testées à la fois par la microméthode et la méthode de E-test.

*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 se sont révélées sensibles à tous les antibiotiques étudiés.

*Escherichia coli* ATCC 25922

|                 |   |
|-----------------|---|
| Amoxicilline    | S |
| Amikacine       | S |
| Ampicilline     | S |
| Aztréonam       | S |
| Chloramphénicol | S |
| Ciprofloxacine  | S |
| Céfixime        | S |

*Staphylococcus aureus* ATCC 29213

|                 |   |
|-----------------|---|
| Doxycycline     | S |
| Erythromycine   | S |
| Amikacine       | S |
| Amoxicilline    | S |
| Ciprofloxacine  | S |
| Chloramphénicol | S |
| Pénicilline G   | S |

Pour *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 leur profil de sensibilité est semblable à celui de la microméthode (sensibles à tous les antibiotiques sélectionnés).

Les résultats de sensibilité obtenus avec les souches de référence par la microméthode et le E-test sont similaires. Leur profil de sensibilité est le même.

### I-3 LES SOUCHES ETUDIÉES

En ce qui concerne *Staphylococcus aureus*, aucune discordance n'a été notée. Ceci a permis d'ailleurs d'évaluer notre microméthode grâce au E-test qui est considéré comme la méthode de référence.

Cette comparaison des deux méthodes a été effectuée plusieurs fois afin de s'assurer de la validité de notre microméthode d'étude *in vitro* de la sensibilité des antibiotiques en microplaques.

Une concordance de résultats est obtenue avec les antibiotiques tels que la doxycycline, l'érythromycine, l'amikacine, la ciprofloxacine et le chloramphénicol.

Cependant, des discordances ont été notées avec l'amoxicilline car : cinq de nos souches sont résistantes à l'amoxicilline avec la méthode du E-test et une souche seulement a présenté une résistance intermédiaire alors qu'avec la microméthode nous avons 5 souches qui se sont montrées résistantes et 2 souches intermédiaires, cela veut tout simplement dire qu'une souche qui s'est révélée intermédiaire avec la microméthode, s'est montrée résistante avec le E-test.

La même situation s'est présentée avec la pénicilline G où une souche résistante avec la microméthode s'est révélée intermédiaire avec la méthode du E-test ; ceci est peut-être dû à la présence d'ions dans le milieu utilisé et aux conditions de conservation des solutions mères d'antibiotique.

Pour les entérobactéries, les antibiotiques comme l'amoxicilline, l'ampicilline, l'aztréonam, la ciprofloxacine et la céfixime le profil de sensibilité des souches est le même avec les deux méthodes (microméthode et E-test).

En ce qui concerne l'amikacine, nous avons eu 4 souches sensibles, une souche intermédiaire et une souche résistante.

Nous avons noté une souche qui s'est révélée intermédiaire par le E-test et sensible avec la microméthode.

Le chloramphénicol a donné 4 souches sensibles et une souche intermédiaire. Alors qu'avec la microméthode nous avons eu 5 souches sensibles.

Ceci s'expliquerait par le fait que nous avons une souche qui s'est montrée sensible avec la microméthode s'est révélée intermédiaire avec la méthode du E-test. Mais les discordances observées au niveau des résultats ne sont pas d'une grande importance et peuvent être qualifiées de discordances mineures.

## II/ DISCUSSION PROPREMENT DITE

### II-1 LES MYCOPLASMES UROGENITAUX

Comme beaucoup d'autres études (**1 ; 22**), *Ureaplasma urealyticum* dont la fréquence avait augmenté ces dernières années était largement prédominant dans la nôtre : 64% de *Ureaplasma urealyticum* contre 36% de *Mycoplasma hominis*.

Les cyclines étaient très utilisés au départ, mais au fil des années, nous avons observé des résistances.

Nos travaux ont donné 6,25 % de résistance à la tétracycline pour *Ureaplasma urealyticum*.

Nos travaux sont comparables avec ceux obtenus dans une étude faite à Madrid où les souches de mycoplasmes ont montré une résistance de 6,6 % à la tétracycline (**18**).

Avec la doxycycline, nous avons remarqué 6,25 % de résistance intermédiaire.

Cependant, *Mycoplasma hominis* présentait respectivement une résistance de 11,10 % et de 11 % à la tétracycline et à la doxycycline.

Les cyclines ont une meilleure activité sur *Ureaplasma urealyticum* et la doxycycline est plus efficace que la tétracycline le groupe d'antibiotiques étant l'un des plus efficaces sur presque toutes les espèces de mycoplasmes, l'augmentation de la résistance des mycoplasmes aux cyclines pose un sérieux problème.

Les quinolones ont en général une bonne activité sur *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*.

La ciprofloxacinine a une meilleure activité sur *Ureaplasma urealyticum* (93,75%) de sensibilité.

L'ofloxacinine est la quinolone qui présente une meilleure activité sur *Mycoplasma hominis*. Cette absence de résistance retrouvée dans notre étude pourrait être due à l'utilisation rare de cette molécule à cause de son coût relativement élevé.

Pour l'érythromycine *Mycoplasma hominis* est quasiment insensible à cet antibiotique avec 11,10 % de souches intermédiaires et 88,90% de résistance. L'inefficacité de ce produit sur les souches de *Mycoplasma hominis* doit être prise en compte car elle est également aussi élevée dans d'autres.

C'est le cas avec les travaux BEBEAR C. et coll. qui ont trouvé 72% de résistance (4).

La clarithromycine est faiblement active sur les souches de *Mycoplasma hominis* avec 22,20 % de sensibilité et 77,8 % de résistance.

Cette clarithromycine a une bonne activité sur les souches de *Ureaplasma urealyticum* avec 100% de sensibilité.

Pour les phénotypes de résistance des mycoplasmes : dans le cas de *Mycoplasma hominis*, on a une prédominance de phénotype E par rapport aux autres familles d'antibiotiques.

Par contre, dans le cas de *Ureaplasma urealyticum* on a une prédominance de Phénotype L.

Les différences d'activité entre familles d'antibiotiques s'expliqueraient par le fait que les facteurs de résistance soient différents d'un antibiotique à un autre.

## II-2 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

La pénicilline G n'est active que sur 8% de nos souches ; ce qui est très faible. Par contre 88% de nos souches sont résistantes à la pénicilline G.

Ces résultats sont superposables à ceux de Wade A. (45) d'après une étude réalisée à l'Hôpital Fann avec 6,25 % ; de Sy K. R. (39) et de Ndir I. (30) à l'Hôpital Le Dantec avec respectivement 8,8 % et 7 %.

Par contre Fall M. I. (16) trouvait 22 % de souches sensibles dans une étude réalisée à l'Hôpital Fann en 1992.

Une diminution très significative de la sensibilité des souches de *S. aureus* est constatée.

En Mexique, en 1999 PANIAGUA et Coll. (34) ont trouvé dans leur étude 100 % de résistance à la pénicilline G.

Ces résultats sont d'ailleurs confirmés par plusieurs publications qui rapportent que le taux de résistance de *S. aureus* à la pénicilline G est de 90 % à travers le monde (88 % dans notre étude).

La pénicilline G est aujourd'hui plus que jamais un mauvais choix thérapeutique lors d'infection à *S. aureus*.

Quant à l'érythromycine on a une bonne activité avec 92 % des souches sensibles.

En 1997, Ndir I. (30) trouvait 78 % dans le même service (HALD)

En 1999, au Mexique PANIAGUA et Coll. (34) ont publié 68,6 %.

En 2002, l'institut Pasteur de Dakar publiait 80,9% de sensibilité.



La ciprofloxacine est un très bon choix thérapeutique dans la famille des quinolones. Ceci est d'ailleurs confirmé par des études faites en Malaisie par NORAJAH A. et Coll. en 2003 qui ont donné 2,5 % de résistance (32).

Quant à l'amikacine, nous avons eu une bonne activité avec 92% de sensibilité de 4 % de résistance.

Nos résultats sont similaires à ceux de NORAJAH A. et Coll. , réalisés en Malaisie qui ont trouvé une résistance de 3,8 %. Ceci montre que l'amikacine est un bon choix en thérapeutique.

Cependant des études réalisées au Liban par MONZER H. et Coll., ont donné 34 % de résistance (27).

Des études faites aux Pays-bas par NEELING A. J. et Coll. nous ont fourni pour le chloramphénicol 11% de résistance tandis HAMZE M et Coll. au Liban ont trouvé 10% de résistance (31 ; 17).

Les résultats sont comparables à ceux de notre étude qui présente une résistance de 8 %.

L'amoxicilline quant à elle offre une bonne activité avec une sensibilité de 76 %.

La doxycycline conserve toujours une bonne activité avec 60% de sensibilité. Mais l'émergence de souches résistantes ont été observée avec un pourcentage de 20 %.

### II-3 LES ENTEROBACTERIES

Les espèces testées dans notre étude sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Providencia*..

Les aminopénicillines, l'ampicilline comme l'amoxicilline ont montré des résistances avec respectivement 6,25 % et 38,80 % .

Nos résultats sont élevés par rapport à ceux obtenus en 2003 à Tripoli par MONZER HAMZE qui a trouvé 15 % de résistance avec les aminopénicillines (27).

Ceci fait d'ailleurs penser à l'émergence de souches de plus en plus résistantes.

Cette résistance pourrait être due à l'utilisation abusive de ces antibiotiques par les malades à cause de son coût abordable (disponible en générique). Cette résistance pourrait également être due à la production de pénicillinase par les entérobactéries.

Ce qui fait qu'en thérapeutique, on utilise de plus en plus l'association amoxicilline / acide clavulanique ; ampicilline / sulbactam ceci afin d'éviter l'inactivation de ces antibiotiques par la pénicillinase. Le plus souvent, l'acide clavulanique ne suffit pas à restaurer la sensibilité à l'amoxicilline chez les entérobactéries productrices de pénicillinases.

Le chloramphénicol quant à lui est actif sur toutes les espèces d'entérobactéries avec 81,15 % de sensibilité.

Quant à l'amikacine, l'aztréonam et la ciprofloxacine, nous avons noté une bonne activité avec respectivement les sensibilités suivantes : 75 %, 50 % et 93,75 %.

La ciprofloxacine s'est montrée très efficace avec 0% de résistance.

En 2000, une étude similaire réalisée au Bégin par GARRAB et Coll. a donné les pourcentages de sensibilité suivante : 92 % pour l'amikacine 83 % pour l'aztréonam et 78 % pour la ciprofloxacine.

De même en 1996, KOECK J. et Coll. ont trouvé 98% de sensibilité pour l'aztréonam, 100 % pour l'amikacine et 96,30 % pour la ciprofloxacine (20).

En 2003, les travaux de HAMZE MONZER au Liban ont donné une sensibilité de 77,90 % pour l'aztréonam, 71 % pour la ciprofloxacine et 89 % pour l'amikacine (27).

Pour ces trois antibiotiques bien qu'appartenant à des familles différentes ont comme dénominateur commun leur efficacité sur toutes les espèces d'entérobactéries.

Mais le terme d'efficacité devrait être nuancé car on assiste progressivement à l'apparition de souches résistantes.

La céfixime quant à elle, céphalosporine de 2<sup>ème</sup> génération n'a pas été active sur les entérobactéries. Une résistance de 93 % a été observée.

Une telle résistance peut être due à sécrétion de céphalosporinase.

## CONCLUSION

Nous avons entrepris ce travail sur les mycoplasmes urogénitaux, les *Staphylococcus aureus* et entérobactéries dans le but d'étudier l'activité des différents antibiotiques généralement utilisés en thérapeutique.

Il s'agit d'une microméthode d'étude de la sensibilité des germes en microplaques. Cette microméthode est une technique à cheval entre la méthode de diffusion et les méthodes automatisées et / ou semi-automatisées, dont les coûts très élevés ne sont pas à la mesure des moyens matériels et financiers dont disposent nos structures.

La microplaque est constituée de cupules qui contiennent des antibiotiques déshydratés. Chaque antibiotique a deux cupules : une pour la CCI et une pour la CCS.

Cette méthode consiste à ajouter dans les cupules contenant les antibiotiques déshydratés, l'inoculum bactérien standardisé (contenant  $5.10^5 - 10^6$  germes/ml).

Après une incubation de 18 à 24 heures, la croissance bactérienne est décelée grâce au virage de l'indicateur coloré le rouge de phénol. Le virage du milieu montre qu'il y a croissance bactérienne en présence d'antibiotique et l'absence de virage démontre le contraire.

Les résultats obtenus sont de 3 catégories :

**Sensible** : si l'inhibition de croissance s'est faite aux 2 concentrations critiques.

**Résistante** : s'il y a croissance bactérienne aux 2 concentrations critiques de l'antibiotique.

**Intermédiaire** : s'il y a croissance au niveau de la concentration critique inférieure et une inhibition de cette croissance avec la concentration critique supérieure.

Nous avons testé le comportement de 25 souches de mycoplasmes urogénitaux, de 25 souches de *Staphylococcus aureus* et de 16 souches d'entérobactéries vis à vis des antibiotiques comme :

- Les Bêta-lactamines
- Quinolones
- Macrolides
- Cyclines
- Monobactam
  - Pénicillines
  - Céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération

Cette microméthode a montré au cours de nos travaux une grande capacité à donner des résultats fiables et à coût moindre.

Pour les milieux d'étude, il doit y avoir une composition rigoureusement définie permettant une production de résultats fiables.

Dans le cas des mycoplasmes urogénitaux, le bouillon urée et le bouillon arginine sont recommandés dans le cadre d'étude de la sensibilité en milieu liquide (avec pH 6,1 – 6,3).

Dans le cas des entérobactéries et des *Staphylococcus aureus*, notre choix pour le bouillon MH supplémenté en ions ( $\text{Ca}^{2+}$  ;  $\text{Mg}^{2+}$ ) inspire les recommandations faites par les auteurs DOSSO M. et Coll. pour l'étude de la sensibilité en milieu liquide (16).

Le glucose constituant essentiel de notre milieu est un sucre utilisé par la plupart des bactéries. Son utilisation par les microorganismes conduit à la production d'acide.

Cette production d'acide a été mise en évidence par un indicateur coloré le rouge de phénol.

Le milieu a en outre une grande stabilité lors de la conservation. Ainsi, les différents constituants de notre milieu ne modifie en rien le pH final. Ainsi la stérilisation à l'autoclave ne dénature pas les différents constituants sauf les ions divalents ( $\text{Ca}^{2+}$  ;  $\text{Mg}^{2+}$ ) qui sont ajoutés au milieu, par filtration stérilisante après autoclavage.

La sélection des antibiotiques est difficile. Les antibiotiques utilisés en recherche fondamentale coûtent excessivement chers et ceux choisis doivent dans tous les cas être stables et actifs au cours des tests.

La conservation des antibiotiques a été faite selon les directions du fabricant. Une fois mise en solution, les conditions de conservation changent.

L'ampicilline et l'amoxicilline ont été les moins stables (6 semaines). Par contre, les autres antibiotiques ont une stabilité de 6 mois à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Les solutions de travail (STCCI et STCCS) ont été préparées avec les solvants et les diluants appropriés.

La microméthode a fourni d'excellents résultats car en faisant une étude comparée avec le E-test qui est une méthode de référence, nous avons obtenu une concordance presque totale.

Cependant, des discordances mineures ont été observées comme par exemple une souche qui se montre résistante avec la méthode du E-test et intermédiaire avec notre microméthode.

Outre ces résultats satisfaisants, la microméthode présente plusieurs avantages.

- ✓ Coût peu élevé : la miniaturisation permet en effet d'utiliser de petites quantités de produits et réactifs
- ✓ Diminution des risques de souillures
- ✓ Lecture facile
- ✓ Interprétation directe des résultats

La microméthode présente aussi certaines limites :

- Elle est destinée aux bactéries fermentaires
- La préparation des solutions de travail est très difficile et nécessite beaucoup de calculs.
- Le temps mis pour la réalisation de ces tests est long.

L'amélioration de cette méthode d'étude de la sensibilité se fera certainement par une déshydratation des antibiotiques, ce qui permettra de réduire le temps de réalisation de ce test de sensibilité.

## BIBLIOGRAPHIE

### **1- BALLE B.**

Micro méthode d'étude *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques des mycoplasmes urogénitaux.

*Thèse pharm.*. Dakar, 1999 N° 48

### **2- BEBEAR C., BARBEYRAC B., DEWILDE A., EDERT D., JANVRESSE C., MENDEL I., RENAUDIN., LE FAOU A., LEFEVRE J. C.**

Etude multicentrique de la sensibilité *in vitro* des mycoplasmes génitaux aux antibiotiques.

*Revue Pathologie et biologie* PARIS 1993,vol. 41, N°4 pp289-293

### **3- BEBEAR C. M., CHARRON A., RENAUDIN H. T., BOVE J. M.**

Altérations in topo isomerase IV And DNA gyrase in quinolone-resistant mutants of *Mycoplasma hominis* obtained *in vitro*

*In : Antimicrobial Agents and chemotherapy* 1998 Sept., 42 (9) ; 2304 -11.

### **4- BEBEAR C.**

Les infections à mycoplasmes en gynécologie obstétrique.

Microsoft Internet Explorer, 1-6

### **5- BONISSOL C.H.**

Biologie des mycoplasmes

*Bull. , Mem., Soc. Med., Paris* .Tome III-N°6



**6- BOTTA G. A., RAPHENON G., BOTTA C., COURDET C.**

Sexually transmitted diseases in senegalese woman

*Clinical microbiology and Infection*, May 1997,3, 2, 277.

**7- DENIS .F**

Mycoplasmes

*CES de bactériologie-virologie clinique* Dakar, 1998

**8- DIA B.**

Résistance des staphylocoques et des streptocoques aux antibiotiques

*Thèse Pharm.*, Dakar, 1993, n°61

**9- DIENG SARR A.**

Les mycoplasmes

*CES bactériologie –virologie 1996*

**10- DIOH H. D.**

Standardisation et évolution de micro méthodes d'identification et d'étude de la sensibilité aux antibiotiques de différentes espèces de mycoplasmes

*Thèse Pharm.* : Dakar, 1998, n°54

**11- DIOP M. Diakité**

Etude de la sensibilité par E-test des souches de bacilles Gram négatif isolées au CHU de Dantec.

*Thèse Pharm.*, 1998 n°69

**12- DOSSO M.**

Etude de la sensibilité in vitro aux ATB de différents isolats bactériens à Abidjan : résultats à propos de 94 souches.

*Médecine digest.*, 1995, Suppl. 4, 32-38

**13- DRAME B.**

Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries, intérêts thérapeutiques et diagnostiques.

*Thèse Pharm* :2001, N°86

**14- DRAME B. Guèye**

Phénotypes de résistance des souches bactériennes isolées au CHU Aristide Le Dantec.

*Thèse Pharm.* Dakar, 1999, N°05

**15- EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing)**

*Determination of Antimicrobial susceptibility test breakpoints* August 2000.

**16- FALL M. I.**

Comportement vis à vis des antibiotiques de 94 souches de *S. aureus* isolées en situation pathogène au CHU de FANN, Dakar

*Thèse Pharm.* : Dakar, 1992, n°83

**17- HAMZE M., DABBOUSSI F., DAHER W., IZARD D.**

Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with Lebanon place of the methicillin resistance and comparison of detection method.

*Internet explorer* 2000

**18- HERRORO A. ; CUEVAS C. ; UMIA A. ; DELGADO T. ;  
LOPEZ B. M.**

Antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* from clinical specimens.  
*Clinical microbiology and infection* May 1997 ; 2, 3, 277

**19- KANE T. K.**

Mise au point d'une microméthode d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

*Thèse Pharm.* : Dakar, 1996, n°69

**20- KOECK J. L. ; CAVALLO J. D. ; FABRE R. ; MEYRAN M. ;  
ROUE R.**

Sensibilité aux antibiotiques des bacilles Gram négatif aérobies isolés d'infections sévères en 1992 : Résultats d'une étude multicentrique française.

*Revue Presse médicale* 1996, Vol. 25, n°30, pp1363-1366

**21- KONATE B.**

Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des staphylocoques, entérocoques et streptocoques.

*Thèse pharm.* Dakar, 2001, N°100

**22- KONATE D.**

Standardisation, optimisation et évaluation d'une micro méthode d'étude de la sensibilité des mycoplasmes urogénitaux.

*Thèse Pharm.* : Dakar, 2001, n°84

**23- KRAUSS et Coll.**

*Mycoplasma / Ureaplasma : Increase in resistance to macrolides, tetracyclines and quinolones* from 1983 to 1998.

**24- MARMONIER A. A.**

Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques

Dans Carbonelle B. et Coll. Bactériologie médicale Techniques usuelles  
Paris, SIMEP, 1987, 227 – 237

**25- MARRA M. A.**

Détermination par E-test de la sensibilité des souches dakaroises de  
*Staphylocoques aureus*

*Thèse Pharm.* : 1998, n°46

**26- MINAR L. ; VERON N.**

Bactériologie médicale 2<sup>e</sup> Edition

*Flammarion, Médecine Science*, Paris 1989, 333-318, 773-823.

**27- MONZER H., FOUAD D., DANIEL I.**

*Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques* : étude sur 4 ans (1998-2001)  
dans le nord liban.

**28- MUSSO D.**

Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques et traitement des  
staphylococcies.

*Medit. Med.* , 1993, 9 :22-24

**29- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)**

Performance standards for antimicrobial susceptibility.

*Testing : Eight Informational Supplement*. NCCLS document M : 100 S8; 1998 :  
n°1

**30- NDIR I.**

Mise au point d'une micro méthode d'identification des entérobactéries.

*Thèse Pharm.* : 1996, n°5

**31- NEELING A.J, LEAVEN WJ, SCHOOLS L.M et Coll.**

Resistance of *Saphylococcus aureus*

*In the netherlands surveillance by an electronic net work during 1989-1995.*

**32- NOZARAH A., LIM V. K., MANIRA S. N., KAMELA G.**

*Staphylococcus aureus* carriage

*In select communitie and their antibiotics susceptibilty patterns* Juin 2003, 58, (2) : 255-61 Malaisie

**33- ODUGBEMIT ; AMIMASHAUMT ; KESAH K. . ODUYEBOY**

Etude de la sensibilité antimicrobienne *in vitro* d'isolats bactériens cliniques à Lagos Nigeria.

*Med. Digest.*, 1995, Suppl 4, 39-54

**34- PANIAGUA G. L., MONROY E., GARCIA O., VACA S.**

Effect of beta-lactamase inhibitors on minimum concentration of ampicillin amoxicillin for *staphylococcus aureus* strains.

*Revue Latinoam Microbiology*, 1998 Juillet - Décembre ; (3-4) 128-34

**35- RAPHENON G.**

Mécanisme de résistance des bactéries aux antibiotiques

*Forum Médical* 1996, 9 :6-11

**36- SENJI P. ; ZELE S. ; KALENIC S.**

Susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* to antibiotics.

*Clinic. Microbiology and infection*, May 1997, 3, 2, 277.

**37- SHEPARD M. C.**

Culture media for *Ureaplasma*

In : Razin S.; Tully J. G.

*Methods in mycoplasmaology, vol. 1 Mycoplasma characterization Academic*

Press New york, 1986, 305, 137 – 146

**38- SIROT J.**

Evaluation de l'activité antibactérienne des ATB in vitro

In : *LEMINOR et VERON Bactériologie médicale :Sciences Flammarion 2<sup>e</sup> édition 1989.*

**39- SY K. R.**

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Données actuelles au CHU A. Le Dantec de Dakar.

*Thèse Pharm.* : 1996, n°55

**40- TAYLOR D., ROBINSON**

Infection due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* : an update

*Clinical infection diseases* ,1996,28,671-684

**41- TODAR K.**

*Bacteriology 330 Lecture Tropics Antimicrobial agents 1996*

**42- TODAR K.**

*Bacteriology 330 Lecture Tropics Bacterial resistance to antibiotics 1996.*

**43- TRAORE R.**

Etat actuel de l'activité in vitro des principaux antibiotiques sur les bacilles à Gram négatif isolées en pratique hospitalière au CHU de Dakar

*Thèse Pharm.* ,Dakar,1989,n°29

**44- TROUVENOT D., BOSSHARD S.**

Les mycoplasmes

*Manuel de bactériologie clinique* 1992,2,11205-1218

**45- WADE A.**

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

*Thèse Pharm.*, Dakar 1996, n°81

**46- WADJI S. D.**

Etude comparative des différentes méthodes de détection des bêta-lactamases sur des souches bactériennes isolées à Dakar.

*Thèse Pharm.* , Dakar 1993 n°84

## **RESUME**

Les bactéries sont des êtres vivants doués des propriétés diverses parmi lesquelles, la capacité d'élaborer des stratégies à même de s'opposer à l'action des antibactériens.

Pour cela, l'utilisation rationnelle des antibiotiques en clinique humaine devrait nécessairement passer par l'étude *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes aux différentes molécules d'antibiotiques. Ceci permettra aux cliniciens d'avoir le choix d'une antibiothérapie de première intention adaptée aux données épidémiologiques locales.

Les différentes techniques utilisées en routine pour l'étude de la sensibilité doivent répondre à plusieurs critères :

- Rapidité d'exécution
- Facilité de réalisation
- Délai de réponse court
- Fiabilité
- Reproductibilité
- Coût peu élevé

Micro CSB a été évalué pour atteindre un certain niveau indispensable à une lutte efficace contre la résistance.

La microplaque est constituée de cupules qui contiennent des antibiotiques déshydratés. Chaque antibiotique a deux cupules : une pour la CCI et une pour la CCS.

Cette méthode consiste à ajouter dans les cupules contenant les antibiotiques déshydratés, l'inoculum bactérien standardisé (contenant  $5 \cdot 10^5$  –  $10^6$  germes/ml).



Après une incubation de 18 à 24 heures, la croissance bactérienne est décelée grâce au virage de l'indicateur coloré le rouge de phénol

Le virage du milieu montre qu'il y a croissance bactérienne en présence d'antibiotique et l'absence de virage démontre le contraire.

Les résultats obtenus sont de 3 catégories :

**Sensible** : si l'inhibition de croissance s'est faite aux 2 concentrations critiques.

**Résistante** : s'il y a croissance bactérienne aux 2 concentrations critiques de l'antibiotique.

**Intermédiaire** : s'il y a croissance au niveau de la concentration critique inférieure et une inhibition de cette croissance avec la concentration critique supérieure.