

La chimiothérapie, c'est...-dire l'utilisation de substances chimiques à long terme, utilisées dans le traitement des infections bactériennes.

En effet, de l'usage des dérivés de l'arsenic ... celui des sulfamides en passant par les colorants diazoxyques la détermination a été constante dans la lutte contre l'infection bactérienne.

Dans cette lutte permanente, les antibiotiques occupent une place de choix.

"L'antibiotique est défini comme une substance chimique obtenue par voie fermentative ... partir de micro-organismes ou par synthèse (totale ou partielle), et dont l'activité thérapeutique se manifeste ... très faible dose, d'une manière spécifique, par une inhibition de certains processus vitaux ... l'éradication de certains micro-organismes (effet bactériostatique) ou par destruction de certains êtres cellulaires (effet bactéricide)".

Les antibiotiques comprennent plusieurs familles caractérisées surtout par une ressemblance de structure.

L'aspect structural permet de distinguer une famille très importante : les β lactamines, caractérisées par la présence d'un cycle à lactame.

Cette famille renferme entre-autres les céphalosporines qui sont réparties en trois générations, et la troisième y occupe une place de choix compte tenu de plusieurs qualités requises pour un antibiotique :

- une activité bactéricide
- un spectre antibactérien important
- une grande stabilité vis-à-vis des β lactamases.

Dans la mise au point de nouvelles molécules, la recherche est orientée vers l'amélioration de ces qualités précitées qui sont d'ordre bactériologique tout en tenant compte de celles pharmacocinétiques et pharmacologiques. C'est dans ce cadre d'étude que s'investit ce présent travail qui consiste à évaluer les avantages et les limites de la RO-40-6890, une nouvelle céphalosporine de troisième génération.

L'étude consistera à comparer son activité ... celles de :

- LA PENICILLINE G
- L'AMOXICILLINE + ACIDE CLAVULANIQUE
- LA CIPROFLOXACINE
- LA CEFUROXIME
- LA CEFTRIAXONE
- LA CEFOTAXIME
- LA CEFTAZIDIME

Cette comparaison se fera en étudiant surtout l'activité de ces différents antibiotiques par recherche des CMI ; et sur différences espèces bactériennes :

- Escherichia coli
- Klebsiellées
- Salmonelles

- Proteus
- Haemophilus.
- Pseudomonas aeruginosa
- Staphylococcus
- Streptococcus

Les valeurs de CMI qui r, vřlent une multir, sistance motivent alors la recherche de ph, nomřnes de r, sistance, et essentiellement la recherche de á lactamases.

PREMIERE PARTIE:

GENERALITES

I. NOTIONS GENERALES SUR LES á LACTAMINES

Les á lactamines constituent la plus vaste famille d'antibiotiques. La liste de ses repr,esentants s'est consid,rablement allong,e durant ces derniŠres ann,es.

Leurs propri,t,s communes(37) sont :

- la pr,sence du cycle á lactame qui est le support de l'activit, antibact,rienne

- un mode d'action identique : inhibition de la synthŠse du peptidoglycane, constituant de la paroi des bact,ries, par fixation ,lective sur les cibles enzymatiques de la membrane cytoplasmique appel,es PLP (Prot,ines de Liaison aux P,nicillines)

- une faible toxicit,.

Sur le plan structural, le cycle á lactame est isol, chez les monobactams, accol, ... un h,t,rocycle pentagonal chez les p,nicillines, hexagonal chez les c,phalosporines.

1. Classification

Elle est bas,e sur la structure m^me de ces á lactamines : le cycle á lactame accol, ou non ... un h,t,rocycle.

1.1 L'ancienne classification

Elle distingue trois groupes : les p,nicillines, les c,phalosporines et les monobactames(figures 1, 2, 3).

1.1.1 Les P,nicillines

Le mot p,nicilline fut donn, par le Professeur Sir ALEXANDRE FLEMING ... une substance ... propri,t, antibact,rienne ,labor,e par un champignon : P,nicillium notatum qui s'opposait ... la croissance de staphylocoques dor,s en culture sur boÖte de p,tri.

Le terme d,signe par la suite une famille d'antibiotiques obtenus par h,misynthŠse ... partir de l'acide amino 6 p,nicillanique (6 APA).

Commercialis,e en 1946, cette p,nicilline pr,senta des insuffisances au bout de quelques ann,es :

- fugacit, de l'action
- instabilit, en milieu gastrique
- ,troitesse du spectre antibact,rien
- hydrolyse du cycle á lactame par les p,nicillinases.

Les insuffisances ont motiv, des recherches relatives ... l'am,lioration de la p,nicilline, ce qui a n,cessit, et abouti ... une modification de la structure.Ainsi, ... partir de la p,nicilline G, des modifications structurales ont abouti aux p,nicillines h,misynth,tiques (M,thicilline - Oxacilline - Floxacilline - Flucloxacilline) et aux nouvelles p,nicillines ensuite :

- CARBOXYPENICILLINE (Carboxicilline)
- UREIDOPENICILLINE (Mezlocilline)

- AMEDINOPENICILLINE (Perm,cilline)

Les améliorations ont permis d'augmenter la stabilité, en milieu acide, ce qui rend possible une utilisation per os, mais aussi d'augmenter le spectre anti-bactérien et la résistance ... la pénicillinase.

1.1.2 Les c,phalosporines

Ce sont des β lactamines hémisynthétiques obtenues ... partir de la c,phalosporine C, substance extraite d'un champignon : cephalosporium acremonium, en 1945 par le Professeur BROTZU.

De 1955 ... 1961, ABRAHAM et NENTON, étudièrent le filtrat d'une culture de ce champignon et identifièrent trois substances antibactériennes :

- la C,phalosporine P
- la C,phalosporine N
- la C,phalosporine C, de structure moléculaire proche de celle de la Pénicilline.

Cette c,phalosporine a en effet une activité, sur la plupart des bactéries ... Gram négatif, elle est résistante ... la pénicillinase mais a une activité antibactérienne trop faible pour une utilisation en thérapeutique.

A partir de 1961, des études menées aux USA ont permis d'isoler un mutant de C.Acremonium, meilleur producteur de c,phalosporine. L'aboutissement fut la mise en évidence du noyau central de cette substance : l'acide 7 amino c,phalosporanique (7 ACA). Ce fut le point de départ de la mise au point de nombreuses c,phalosporines.

Au fur et ... mesure, ces c,phalosporines subissent des modifications dans le but d'une amélioration de leur activité, d'une augmentation de leur résistance vis-à-vis des β lactamases : ceci est ... l'origine de leur classification en générations (première, deuxième et troisième).

1.1.3 Les Monobactams (11,23)

Ce sont des β lactamines monocycliques, de découverte récente et dont l'unique représentant est l'AZTREONAM (AZACTAM).

Il est synthétisé, en 1987 et commercialisé, en 1988.

Isolé d'une bactérie (Chromobacterium violaceum), ce premier monobactam a conduit ... la synthèse de l'aztreonam molécule qui, par de nombreux aspects est unique parmi les β lactamines.

Il n'a en commun avec les pénicillines et les c,phalosporines que le cycle β lactam, sans pour autant perdre l'efficacité, que l'on croyait liée au noyau bicyclique.

1.2 Nouvelle classification

La structure chimique des β lactamines est variable et permet de distinguer quatre groupes :

- 1.2.1 Les Penames (figure 4)
- 1.2.2 Les Penames et Carbopenemes (figure 5)
- 1.2.3 Les Cephemes (figure 6)

La relation structure-activité, montre que :

- le groupement OCH₃ va augmenter la stabilité, ... l'hydrolyse par les c,phalosporinases.

- l'hydrogène au sommet va élargir le spectre vers les bactéries ... GRAM négatif tout en la diminuant par rapport ... celles ... GRAM positif

1.2.4 Les Monobactams

Le seul représentant est l'Aztr, onam (AZACTAM), très stable vis-...-vis des β lactamases grâce aux radicaux R1 et R2.

2. LES CEPHALOSPORINES

2.1 G, n, ralit, s

Ce sont des β lactamines ayant en commun le noyau 7 amino c, phalosporanique dont la mise en évidence ... partir de la c, phalosporine C fut le point de départ d'une évolution de l'antibioth, rapie.

En effet, ... partir de l'acide 7 amino c, phalosporanique (7ACA), une série de r, actions ont permis d'aboutir ... des d, riv, s très actifs et r, sistants aux p, nicillinases.

Parmi les c, phalosporines, on distingue trois groupes ou g, n, rations, cette distinction est bas, e sur l'activit, mais aussi la r, sistance aux β lactamases.

2.2 Activit, antibact, rienne

Classiquement, le comportement d'une souche bact, rienne vis-...-vis d'une β lactamine en g, n, ral d, pend au moins de trois facteurs (5,37)

- la perm, abilit, de sa paroi qui conditionne la p, n, tration de l'antibiotique

- la production , ventuelle de β lactamase pouvant inactiver l'antibiotique

- l'affinit, de l'antibiotique pour ses prot, ines cibles appel, es prot, ines de liaison ... la p, nicilline (PLP).

Les c, phalosporines sont des antibiotiques bact, ricides, et pour cela, elles doivent pouvoir p, n, trer sp, cifiquement ... travers la paroi de la bact, rie, , chapper , ventuellement aux enzymes d'inactivation (β lactamase), et enfin atteindre au niveau de la membrane cytoplasmique leurs cibles vari, es, de nature prot, ique (les PLP) aux fonctions enzymatiques mal pr, cis, es. On peut alors observer des malformations morphologiques de la bact, rie, dont le stade ultime est le plus souvent la mort par , clatement cellulaire (effet bact, ricide).

L'extrême sp, cificit, de ces ph, nomšnes laisse entrevoir les qualit, s requises pour une β lactamine id, ale : P, n, tration rapide et importante dans la paroi de nombreuses espšces bact, riennes, faible activit, des β lactamases lorsqu'elles sont pr, sentes, enfin excellente affinit, pour les cibles responsables de la morphologie.

La d, termination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des c, phalosporines permet de se renseigner sur l'activit, de celles-ci et de distinguer trois g, n, rations.

2.2.1. C, phalosporines de premiŠre g, n, ration

Caract, ris, es par des CMI relativement , lev, es par rapport ... celles de la deuxiŠme et troisiŠme g, n, ration :

CMI = 1 ... 10 μ g/ml de sang .

Exemples : . C, falotine (KLEFIN)

. C, f, zoline (CEFACIDAL)

. C, fadroxil (ORACEFAL)

2.2.2 C, phalosporines de deuxiŠme g, n, ration

Les CMI sont plus basses que celles de la premiŠre g, n, ration : 0,25 ... 4 μ g/ml de sang .

Exemples : . C, foxitine (MEFOXIN)

. C, famandole (KEFANDOL)

. C, furoxime (CUROXIME)

2.2.3 C, phalosporines de troisiŠme g, n, ration

Presentent des valeurs de CMI très basses: 10 ... 100 fois inférieures ... celles de la premiŠre et deuxiŠme g, n, ration.

Exemples : . C, fotaxime (CLAROFAN)
. Cefoperazone (CEFOBIS)
. Ceftazidime (FORTUM)
. Ceftriaxone (ROCEPHINE)
. LA RO 40-6890.

2.3 Spectres d'action

2.3.1 C, phalosporines de 1^{ère} g, n, ration

Elles sont les seules qui agissent sur les cocci ... Gram positif :

- staphylococcus aureus M, thicilline S
- streptocoques á h, molytiques
- pneumocoques.

Cependant, cette action est inf, rieuse ... celle des p, nicillines.

Les bact, riques ... Gram n, gatif comme les ent, robact, riques sont moins sensibles aux c, phalosporines de premi^{ère} g, n, ration.

2.3.2. Les c, phalosporines de deuxi^{ème} g, n, ration

Elles ont une meilleure activit, sur :

- le m, ningocoque
- le gonocoque
- Bact, ro<des fragilis
- Haemophilus influenzae.

2.3.3 Les c, phalosporines de troisi^{ème} g, n, ration

Celles-ci pr, sentent une bonne r, sistance aux á lactamases, et une activit, particuli^{ère} sur les bact, riques ... Gram negatif telles que les ent, robact, riques ... des CMI 10 ... 100 fois inf, rieuses ... celles des c, phalosporines de premi^{ère} et deuxi^{ème} g, n, rations. Plus de 90 % des ent, robact, riques sont sensibles. Les esp^{èces} sensibles sont les suivantes :

E. Coli - Salmonella - Shigella
Klebsiella
Enterobacter
Serratia
Proteus
Citrobacter
Haemophilus
Neisseria

Les ana, robes (Moxalactam et Cefotetam).

P. aeruginosa l'est moyennement, et deux antibiotiques sont actifs sur cette esp^{èce} : Ceftazidime - Cefsulodine. Acinetobacter et enterococcus sont r, sistants.

De la premi^{ère} ... la troisi^{ème} g, n, ration, on note une am, lioration du spectre des c, phalosporines, avec tout de m^{ême} une pr, dominance de la premi^{ère} sur les cocci ... Gram positif.

La RO 40-6890 (figure 7)

C'est le m, tabolite de la RO 41-3399, une c, phalosporine aminothiazolyl de troisi^{ème} g, n, ration.

Spectre d'activit, :

Activit, "in vitro"

- c'est celle des c, phalosporines de troisi^{ème} g, n, ration, notamment sur les bacilles ... Gram n, gatif et principalement les ent, robact, riques, vibrions ; de plus, elle est active sur N. meningitidis,

N. gonorrhoeae, *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*, de même que sur les *Haemophilus* (2, 23, 41).

- stable vis-à-vis de la β -lactamase TEM.

Cependant, certaines souches d'*E. cloacae*, de *C. freundii* et d'autres qui produisent d'importantes quantités de β -lactamases, ou des β -lactamases à large spectre sont résistants vis-à-vis de RO 40-6890, de même que *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* sp.

Chez les bactéries ... Gram positif, RO.40-6890 est principalement active vis-à-vis de *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. albus*, *S. pneumoniae* et *S. viridans* de même que les staphylocoques méthi *S. coagulans* négative ou positive, tandis que les staphylocoques méthi *R. coagulans* positive ou négative, les entérocoques et *Listeria* sp sont résistants.

2.4 Résistance bactérienne aux céphalosporines

La résistance bactérienne est la capacité, pour une souche de se multiplier dans une concentration d'antibiotique supérieure ... celle qui inhibe la majorité des souches appartenant ... la même espèce.

L'aspect le plus controversé, de cette résistance correspond ... la non guérison du malade alors que l'on avait prescrit un produit supposé actif. Cet échec est imputable ... deux séries de causes :

- l'absence de corrélation absolue entre les données "in vitro" et les résultats cliniques

- la non expression de certaines résistances "in vitro" ou leur faible niveau.

La résistance bactérienne a atteint en clinique humaine un niveau qui impose une rationalisation de la lutte anti-infectieuse.

L'une des raisons de s'inquiéter de cette évolution dangereuse de la résistance bactérienne est la capacité, qu'ont ces bactéries de s'adapter aux différents antibiotiques, même les plus récents.

On a noté, que la proportion des souches multirésistantes dépasse le tiers des isollements parmi les *Serratia*, les *Providencia* et *Pseudomonas aeruginosa* ; elle atteint même 80 % des *Serratia* dont 45 % sont résistants ... tous les antibiotiques.

2.5 Mécanismes de résistance aux céphalosporines

Plusieurs mécanismes constituent le support de la résistance bactérienne (5).

2.5.1 Rôle de la perméabilité, de la paroi

Ce mode de résistance n'affecte pas les bactéries ... Gram positif du fait de l'absence de membrane externe. Chez les bactéries ... Gram négatif, la pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, ... travers la membrane externe constituée de phospholipides, s'effectue ... travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau.

La sensibilité, aux antibiotiques dépend du nombre de porines fonctionnelles, et des mutants résistants par diminution des porines ont été observés.

Ainsi, la diminution de la synthèse des porines joue un rôle dans l'apparition de la résistance aux β -lactamines.

2.5.2 Les β -lactamases

Ce sont des enzymes dont la synthèse est médiée par un chromosome ou par un plasmide, produites en quantité variable selon la nature (pénicillinase ou céphalosporinase), excrétées dans l'espace périplasmique chez les bacilles ... Gram négatif ou ... l'extérieur de la cellule chez les bactéries ... Gram positif. Enfin, leur synthèse est inductible ou constitutive (41).

Tableau 2 : Relations entre les diff,rentes
classifications de b^ta-lactamases (5)

```

ÚAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA;
3 MATTHEW 3MITSUHASHI 3PITTON3LIBIA ET 3RICHMOND 3
3 3 3 3PHILIPPON 3ET SYKES 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 C.ase 3 C. ase 3 3 3 I 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 TEM - 1 3 TYPE Ia 3TEM 1 3 3 3
3 3 3TYPE 13 3 III a 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 TEM - 2 3 TYPE Ib 3 3 3 III a 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 SHV - 1 3 3TEM 1 3 3 3
3 3 3TYPE 23 3 IV 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 HMS - 1 3 3 3 3 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 OXA - 1 3 TYPE II 3 3 3 Va 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 OXA - 2 3 TYPE III 3 3 3 Vb 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 OXA - 3 3 3 3 3 V 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 PSE - 1 3 TYPE IV 3 3 CARB - 2 3 V 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 PSE - 2 3 3 3 3 V 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 PSE - 3 3 3 3 CARB - 4 3 Ve 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA'
3 PSE - 4 3 3 3 CARB - 1 3 Vd 3
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAÙ

```

TEM : D'aprŠs Temoniera : nom du malade chez qui la premiŠre souche a
,t, isol,e.
SHV : Sulphydryl variable.
HMS : Hedges, Matthew et Smith.
PSE : Pseudomonas sp,cific enzyme.
C. ase : C,phalosporinase

2.5.2.2 Rôle des β -lactamases dans la résistance (28, 38, 53,)

L'effet des β -lactamases représente le mécanisme principal de résistance bactérienne aux β -lactamines : la production d'enzymes hydrolysant le cycle β -lactame de la pénicilline, mise en évidence pour la première fois avec *S.aureus* lors d'épidémies hospitalières dans les années 1950.

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

- l'affinité, de l'enzyme pour le substrat (K_m)
- la vitesse d'hydrolyse (v_m)
- la quantité, d'enzymes biosynthétisées
- la localisation de l'enzyme
- la diffusion de l'antibiotique ... travers la membrane externe jusqu'au contact de l'enzyme ou crypticité,
- le type d'enzyme.

2.5.2.2.1 β -Lactamases des staphylocoques

Elle est inductible, et hydrolyse préférentiellement les pénicillines.

Son déterminisme génétique est d'origine plasmidique, le transfert s'effectuant par transduction.

Sa localisation est extracellulaire, c'est-à-dire libre ... l'extérieur de la bactérie. Elle détruit alors la pénicilline avant qu'elle n'arrive au contact de la bactérie.

2.5.2.2.2 Les β -lactamases des bactéries ... Gram négatif.

L'introduction des β -lactamines ... large spectre a permis d'identifier de très nombreuses variétés de β -lactamases parmi les bactéries ... Gram négatif.

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

* Les pénicillinases

Elles hydrolysent préférentiellement les céphalosporines de première génération, ... un moindre degré, les aminopénicillines et les ureidopénicillines, peu actives sur les carboxypénicillines.

Le phénotype de résistance d'une pénicillinase ... bas niveau est :

- Ampicilline R
- Carbapénicilline S
- Céfalotine S ou I
- Amoxicilline + acide clavulanique S

* Les céphalosporinases

Elles hydrolysent préférentiellement les céphalosporines de première génération, ... un moindre degré, les aminopénicillines et les ureidopénicillines, peu active sur la carboxypénicilline.

Le phénotype de résistance d'une céphalosporine ... bas niveau est :

- Ampicilline R

- Carbenicilline R
- C, falotine R
- Amoxicilline + Acide clavulanique R

Les c,phalosporinases chromosomiques qui hydrolysent pr,f,rentiellement les c,phalosporines de premišre g,n,ration o- de deuxiŝme g,n,ration, mais aussi l'ampicilline sont produites en quantit, variable chez les enterobacter, Citrobacter, Serratia, Proteus et Pseudomonas

* Les b^ta-lactamases ... spectre ,largi.

Les b^ta-lactamases ... spectre ,largi sont des enzymes plasmidiques m,diatrices de r,sistance aux p,nicillines et ... certaines cephalosporines de troisiŝme g,n,ration chez des espšces habituellement sensibles ... ces antibiotiques.

Les germes les plus incrimin,s sont les Klebsiella pneumoniae, plus rarement Klebsiella oxytoca, E. coli, Salmonella sp.

Sur le plan g,n,tique, les á lactamases des bact,ries ... Gram n,gatif peuvent ˆtre de d,terminisme chromosomique ou plasmidique. Elles sont inductibles ou constitutives, c'est ... dire synth,tis,es en l'absence d'inducteur. Leur localisation est p,riplasmique(5,37).

- les á lactamases plasmidiques sont synth,tis,es de faon constitutive ... un niveau d'expression g,n,ralement ,lev,. Une dizaine d'enzymes sont actuellement bien d,finies sur des plasmides de bact,ries ... Gram n,gatif

. les á lactamases TEM-1, TEM-2, SVH-1, et HMS-1, enzymes ... large spectre ont une activit, d'hydrolyse touchant l'ampicilline et la carbenicilline et les c,phalosporines de premišre et deuxiŝme g,n,rations, TEM-1 est de loin la plus r,pandue chez les ent,robact,ries, les genres Haemophilus et Neisseria.

. les á lactamases OXA-1, OXA-2, OXA-3 hydrolysent les isoxazol-p,nicillines et l'ampicilline plus que la c,faloridine.

. les á lactamases PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE-4 hydrolysent plus l'ampicilline et la carb,nicilline que la cefaloridine, et sont essentiellement retrouv,es chez P. aeruginosa et sont responsables de la r,sistance ... la carb,nicilline.

Parmi les souches de P.aeruginosa r,sistantes ... la carb,nicilline et á lactamases positives, les fr,quences des diff,rentes á lactamases constitutives sont respectivement de(5,37):

- . PSE-1 (CARB-2) : 53,8 %
- . OXA : 30,5 %
- . TEM : 8,7 %

- les á lactamases chromosomiques des bacilles ... Gram n,gatif sont soit des p,nicillinases, soit des c,phalosporinases.

. les p,nicillinases chromosomiques (... large spectre) sont retrouv,s chez Klebsiella et Branhamella catarrhalis qui sont naturellement r,sistantes ... l'ampicilline et ... la carb,nicilline.

. Les c,phalosporinases chromosomiques qui hydrolysent pr,f,rentiellement les c,phalosporines de premišre ou de deuxiŝme g,n,ration mais aussi l'ampicilline, sont produites en quantit, variable chez Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Proteus et Pseudomonas.

2.5.3 Autres enzymes

A c"t, des á lactamases, on rencontre d'autres enzymes qui inactivent les antibiotiques.

2.5.3.1 Les amidases

Elles inactivent les chaines lat,rales(en 6 et 7) des penicillines et des c,phalosporines.

2.5.3.2 Les esterases

De d,couverte r,cente, hydrolysent la chaine lat,rable (en 3) des c,phalosporines.

2.5.4 R"le des PLP dans la r,sistance bact,rienne aux c,phalosporines

Le r"le des PLP dans la r,sistance bact,rienne intrinsŠque a ,t, mis en ,vidence chez des mutants d' E.coli qui avaient une r,sistance augment,e au m,cillinam, due ... une diminution de l'affinit, des PLP-2 pour cet antibiotique. Ces mutants n'avaient pas de r,sistance crois,e pour les autres á lactamines ayant une affinit, pour PLP-1 et PLP-3.

Ainsi, une diminution de l'affinit, des PLP "essentiellles" va augmenter les CMI, jusqu'... plusieurs centaines de fois la CMI initiale.

Des modifications d'affinit, de plusieurs PLP ont ,t, observ,es chez S.pneumoniae,la cons,quence est une variation des CMI de la benzyl p,nicilline qui passe ainsi de 0,01 mg/l ... 12,5 mg/l (39).

La r,sistance intrinsŠque des staphylocoques ... la m,thicilline est caract,ris,e par le fait que seule une fraction de la population exprime la resistance dont l'expression visible est fonction des conditions de croissance(milieu hypersal,, temperature de 30øC).L'origine de la r,sistance h,t,rogŠne serait : soit la diminution de l'affinit, de la PLP-3 pour la m,thicilline selon les conditions de culture, soit ... une modification en rapport avec la synthŠse d'une nouvelle PLP "essentielle" dont l'affinit, est trŠs faible vis ... vis de la m,thicilline.

Enfin, r,cemment, l'apparition de souches d'Haemophilus r,sistantes ... l'ampicilline mais á lactamase n,gative a ,t, attribu,e ... une alt,ration de certaines PLP.

3. INHIBITEURS DES á LACTAMASES

L'innovation th,rapeutique ,volue conjointement avec une meilleure connaissance des diff,rents m,canismes de r,sistance. L'une des voies les plus f,condes fut celle de l'h,misynthŠse de mol,cules stables ... l'inactivation par les á lactamases.

Parmi les nombreux inhibiteurs enzymatiques identifi,s (41):

- immunologiques,
- ioniques (chlorures - iode - nitrate)
- chimiques (xylocaine),

aucune n'est utilisée dans le domaine médical en association avec une β -lactamine ... l'exception de ceux combinés (β -lactamine : Methicilline - cloxacilline).

L'acide clavulanique est la première ... être commercialisée en France en association avec l'oxacilline (AUGMENTIN), le sulbactam et l'ampicilline (UNASYN) ensuite.

3.1 Le sulbactam et l'acide clavulanique

3.1.1 Structures

Sulbactam (figure 8)

l' Acide clavulanique (figure 9)

3.1.2 Propriétés

Dans un intérêt thérapeutique, les inhibiteurs doivent satisfaire aux exigences suivantes (5, 41):

- . bonne pénétration de la paroi bactérienne, particulièrement celle des bactéries ... Gram négatif

- . excellente affinité pour la β -lactamase très supérieure ... celle de l'antibiotique donné en association et affinité pour de nombreuses enzymes de germes ... Gram négatif et ... Gram positif aérobies et anaérobies

- . inhibition obtenue rapidement et de manière irréversible

- . retour des bactéries résistantes vers la sensibilité, ... un niveau semblable ... celui observé chez l'espèce sensible, donc synergie suffisante

- . une faible concentration d'inhibiteur doit être efficace, de l'ordre de 0,1 ... 2 μ g/ml

- . une activité antibactérienne propre n'est pas nécessaire

- . l'inhibiteur ne doit pas être inducteur

- . les propriétés pharmacocinétiques doivent être comparables pour les deux β -lactamines (antibiotique et inhibiteur)

- . le coût de l'association doit être si possible faible.

Ces inhibiteurs sont actifs vis-à-vis de nombreuses enzymes, essentiellement du type pénicillinase.

Tableau 3: R, sistance aux penicillines (Peni R) et principales beta lactamases inhib, es par l'acide clavulanique (41)

ESPECE	PENI.R	TYPE á LACTAMASE	GENE
<i>S. aureus</i>	80-90%	P.ase d'espŠce	Plasmidique
<i>N. gonorrhoeae</i>	0-10 %	P.ase TEM-1	Plasmidique
<i>H. influenzae</i>	ó 10 %	P.ase TEM-1	Plasmidique
<i>B. catarrhalis</i>	20-50 %	P.ase d'espŠce	Chromosomique
<i>B. fragilis</i>	ò 95 %	C.ase d'espŠce	Chromosomique
<i>R. vulgaris</i>	ò 95 %	C, furoxinase	Chromosomique
<i>K. pneumoniae</i>	ò 95 %	P.ase d'espŠce	Chromosomique
<i>K. pneumoniae</i> +R	20-40 %	P.ase TEM	Plasmidique
<i>E. coli</i> + R	20-35 %	P.ase TEM	Plasmidique
<i>P. mirabilis</i> + R	10-15 %	P.ase TEM	Plasmidique

+R = trŠs r, sistant.
Pase = penicillinase
Case = cephalosporinase

Le spectre du sulbactam est ... peu prŕs identique avec une activit, inhibitrice similaire sur les á lactamases de B.catarrhalis, de K.pneumoniae par exemple, mais diminu,e sur celles de type TEM, enzyme plasmidique pr,dominante des espŕces ... Gram n,gatif devenues r,sistantes aux p,nicillines telles N.Gonorrhoeae, H.influenzae, E.coli, P.mirabilis.

Ces inhibiteurs n'ont malheureusement pas d'activit, inhibitrice suffisante ... l',gard des c,phalospořinas, m,diatrices de la r,sistance naturelle aux aminop,nicillines et aux c,phalospořines de premiŕre voire de deuxiŕme g,n,ration.

L'association aminopenicilline-inhibiteur sera sans effet sur certaines espŕces productrices de c,phalospořinas (Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Proteus indole + , P.aeruginosa).

3.2. L'Imipenem

A une action sensiblement identique ... celle de l'acide clavulanique et le sulbactam, et semble m^me pouvoir inhiber les c,phalospořinas insensibles ... l'acide clavulanique.

Avec l'imipenem, on remarque, une activit, sur certaines ent,robact,ries r,sistantes aux c,phalospořines de 3ŕme g,n,ration.

Cette propri,t, serait d-e ... la stabilit, de l'imipenem vis ... vis de la c,phalospořinase chromosomique responsable de la r,sistance de ces bact,ries.

Ainsi, la stabilit, aux á lactamases et la facilit, de traverser la paroi cellulaire des bacilles ... Gram n,gatif expliquent l'activit, de l'imipenem vis ... vis de P.aeruginosa resistant ... la ceftazidime .

3.3 L'Aztreonam

Il n'est pas inactiv, par les p,nicillinases chromosomiques ou plasmidiques ou les c,phalospořinas inductibles, tout comme les c,phalospořines de 3ŕme g,n,ration et l'Imipenem, ... l'exception de la C,foperazone, inactiv,e par les penicillinases d'origine plasmidique. Les cephalospořinas constitutives et les á lactamases ... large spectre inactivent l'aztreonam, la c,foperazone et les oximino c,phalospořines.

Sa structure et sa propri,t, inhibitrice des c,phalospořinas de certaines ent,robact,ries devraient permettre de distinguer ult,rieurement l'aztreonam des c,phalospořines de 3ŕme g,n,ration quant ... son profil d'activit, vis ... vis des espŕces d'ent,robact,ries productrices de á lactamases.

4. LA RESISTANCE HETEROGENE

La r,sistance des staphylocoques ... la meticilline et aux autres b^ta-lactamines r,sistantes aux penicillinases est d'un type trŕs particulier;

elle est d, nomm, e "h, t, rogšne" car quelques cellules seulement sont r, sistantes (1 pour 10.000 dans le cas de la meticilline, 1 pour 100.000 cellules dans le cas des c, phalosporines).

L'expression ph, notypique de la r, sistance ne se fait que si la croissance a lieu ... 30øC et en milieu hypersal, (5 p.100 de chlorure de sodium); ces souches semblent avoir une paroi modifi, e. (15)

DEUXIEME PARTIE

T R A V A I L P E R S O N N E L

I. MATERIEL ET METHODES

1. Cadre de l'étude

Notre travail s'est déroulé, au Laboratoire de bactériologie et de virologie de l'hôpital ARISTIDE LE DANTEC DE DAKAR (H.A.L.D.) qui fait partie du Centre Hospitalier Universitaire (C.H.U.) de DAKAR. Ce Laboratoire aux activités diverses et variées, comporte trois bâtiments dont l'un abrite les locaux de la virologie et au deuxième se trouvent les paillasses de bactériologie, la salle de stérilisation, la réception et la salle de prélèvement.

2. Les souches bactériennes

Elles sont toutes isolées au laboratoire durant l'année 1992.

Les différents tests effectués dans le cadre de ce travail portent sur cent vingt et neuf souches bactériennes (129) composées de bacilles ... Gram négatif et de cocci ... Gram positif. Les différentes espèces (Tableau 3') sont :

- Escherichia coli
- Haemophilus influenzae b
- Klebsiella oxytoca
- Klebsiella pneumoniae
- Proteus mirabilis
- Pseudomonas aeruginosa
- Salmonella sp
- Salmonella typhi

- Staphylococcus aureus
- Staphylococcus epidermidis
- Streptococcus groupe G
- Streptococcus pyogenes
- Streptococcus pneumoniae

TABLEAU 3' : REPARTITION DES DIFFERENTES ESPECES BACTERIENNES
EN FONCTION DE LA NATURE DU PRELEVEMENT.

SOUCHES BACTERIENNES	ORIGINES	Nb.
Escherichia coli.....	SphŔre ORL	10
Haemophilus influenzae b..	Pus d'arthrite	3
Haemophilus influenzae b..	Liquide c,phalo rachidien	5
Klebsiella oxytoca.....	SphŔre ORL	3
Klebsiella pneumoniae.....	SphŔre ORL	16
Proteus mirabilis.....	Urines	10
Pseudomonas aeruginosa....	SphŔre ORL	3
Pseudomonas aeruginosa....	Pus d'otite	7
Salmonella sp.....	Sang	3
Salmonella sp.....	Selles	1

æg/ml ... ,06 æg/ml pour chaque antibiotique, selon une progression géométrique de raison 2.

L'inoculum a été préparé en diluant une colonie prélevée ... l'aide de l'anse de platine dans 10ml d'eau physiologique, l'ensemencement est fait ... l'aide de l'ensemencement ... pointes multiples de DENLEY.

La CMI d'un antibiotique correspond ... la concentration minimale de cet antibiotique qui empêche toute croissance visible.

4. Recherche de β lactamase

4.1. Par l'épreuve iodométrique

4.1.1. Matériel

- Culture de 24 heures sur gélose de Mueller-Hinton ou sur gélose au sang cuit selon la souche ... tester
- Pénicilline G sodique ... un million UI
- Tampon phosphate pH 6
- Amidon en poudre
- Eau distillée
- Iodure de potassium

Avec ces différents réactifs, nous avons préparé :

- . une solution de pénicilline G ... 6æg/ml
- . une solution d'amidon ... 10 g/ml
- . une solution d'iode (23,03g d'iode et 53,2g d'iodure de potassium dans 100ml d'eau distillée).

4.1.2. Méthode

L'acide pénicilloïque libre, sous l'action de la β lactamase sur la pénicilline, se lie ... l'amidon qui ne peut plus réagir avec l'iode pour colorer le milieu en violet

- introduire 0,1ml de solution de pénicilline G dans autant de tubes ... hémolyse que de souches ... tester
- faire une suspension dense de la souche ... tester dans cette solution de pénicilline G
- le mélange bien remué, est laissé ... la température du laboratoire pendant 30 minutes
- ajouter ensuite deux gouttes d'amidon dans chaque tube, et mélanger
- enfin, une goutte de la solution d'iode, ce qui fait apparaître une coloration bleu ... bleu-violet.
- Imprimer une rotation au mélange pendant une minute.

Une décoloration au bout de dix minutes indique une production de β lactamase.

4.2. Recherche de β lactamase ... spectre large

Elle a été faite sur les bacilles ... Gram négatif.

4.2.1. Matériel

- Culture de 24 heures sur milieu adquat de la souche ... tester
- Gélose de Mueller-Hinton ou gélose au sang cuit coulé dans des boîtes de pétri
- Disques pour antibiogramme (Laboratoire MERIEUX)

- . Amoxicilline (20æg) + acide clavulanique (10æg) = AMC
 - . C,efotaxime (30æg) = CTX
 - . Ceftazidime (30æg) = CAZ
 - . Cefuroxime (30æg) = CXM
 - . Ceftriaxone (30æg) = CRO
 - . C,efoperazone (30æg) = CPR
 - . Ampicilline () + sulbactam ()
- Eau physiologique.

4.2.2. M,thode

Il s'agit de mettre en ,vidence l'image de synergie obtenue entre une c,phalosporine de troisiŠme g,n,ration et un inhibiteur chimique des á lactamases : l'acide clavulanique ou le sulbactam. Ces deux inhibiteurs sont test,s s,par,ment.

Le disque d'AUGMENTIN ou de sulbactam+ampicilline est plac, au centre de la boÖte aprŠs ensemencement en nappe, puis tout au tour de celui-ci et ... 30mm les c,phalosporines de troisiŠme g,n,ration.

La s,cr,tion de á lactamase par la souche se traduit par une image de synergie entre l'Augmentin ou l'ampicilline + sulbactam et l'une au moins des c,phalosporines de troisiŠme g,n,ration.

4.3. Recherche de á lactamase par les disques de "c,finase" (Nitroc,fine)

4.3.1. Mat,riel

- Une culture de la souche sur milieu appropri, et solide
- Disques "c,finase" des laboratoires MERIEUX
- Eau physiologique
- Lames porte-objet et pipettes Pasteur.

4.3.2. M,thode

L'acide lib,r, sous l'action de la á lactamase fait virer l'indicateur color, pr,sent dans le milieu r,actionnel. Les disques d,pos,s sur lame porte-objet sont mouill,s avec l'eau physiologique. Avec une pipette Pasteur, des colonies sont pr,lev,es et ,tal,es sur le disque.

Une coloration rouge-violet du disque t,moigne de la s,cr,tion de á lactamase par la souche.

4.4. Recherche de r,sistance h,t,rogŠne

Cette recherche a ,t, faite sur les staphylocoques. (S. aureus et S. epidermidis)

4.4.1. Technique utilisant la g,lose de
Mueller-Hinton (MH) associ,e au chlorure
de sodium (NACL) et ... l'oxacilline (Bristopen)

4.4.1.1. Mat,riel

- Culture de 24 heures de la souche ... tester
- Eau physiologique
- Tube ... h,molyse
- G,lose MH en boCte de p,tri
- Chlorure de sodium
- Oxacilline (Bristopen)
- Etuve ... 30øC.

4.4.1.2. M,thode

Chez une souche m,thi R, seulement une proportion des corps bact,riens est capable d'exprimer la r,sistance et de croCtre en pr,sence de m,thicilline (ou d'oxacilline).

Cette technique consiste ... pr,parer un inoculum dans de l'eau physiologique ... partir d'une culture de 24 heures de la souche. A partir de cet inoculum, faire un ensemencement par point sur la g,lose MH + NACL (4%) et oxacilline (6mg/l).

L'incubation : ... 30øC pendant 24 ou 48 heures

Une souche r,sistante h,t,rogŠne pr,sente une pousse au niveau du point d'inoculation.

4.4.2. Technique utilisant la g,lose de
Mueller-Hinton hypersal, ... 5% et des disques
d'oxacilline charg,s ... 2øg

4.4.2.1. Mat,riel

- G,lose MH ... 5% de NACL et en boCte
- Disques d'oxacilline charg,s ... 2øg (Laboratoires MERIEUX)
- Culture de 24 heures sur MH de la souche
- Eau physiologique et tubes ... h,molyse.

4.4.2.2 M,thode

La proportion des corps bact,riens d'une souche m,thi R exprime sa r,sistance par une croissance en pr,sence de m,thicilline ou d'oxacilline.

A partir de la culture et de l'eau physiologique, il s'agit de pr,parer un inoculum (comme pour antibiogramme) qui sera coul, en nappe.

AprŠs d,p"t du disque d'oxacilline, l',tuvage se fera ... 30øC pendant 24 ... 48 heures. Dans ces conditions, la r,sistance h,t,rogŠne se traduit par la pr,sence de petites colonies dans la zone d'inhibition autour du disque.

Ces colonies sont plus visibles aprŠs 48 heures d'incubation.

II. RESULTATS ET COMMENTAIRES

1. R,sultats globaux ou activit, de chaque anti-
biotique sur l'ensemble des souches

Les r,sultats de l',tude de la sensibilit, des diff,rentes souches sont
r,pertori,s dans les tableaux (4, 5, 6).

Tableau 4 : valeurs extr^mes des CMI (æg/ml) des diff,rents antibiotiques
vis-...-vis de l'ensemble des souches.

ANTIBIOTIQUES	Nbre DE TESTES	SOUCHES	INTERVALLE DES CMI	CMI 50	CMI 90
RO-40-6890	129		256-0,06	0,104	35,2
CEFTRIAXONE	129		256-0,06	0,105	35,2
CEFUROXIME	129		256-0,06	4	136
AMOXICILLINE+					
ACIDE CLAV.	129		256-0,06	9,491	230,2
PENICILLINE G	55		256-0,06	0,096	3
CIPROFLOXACIN	129		256-0,06	0,089	1,6
CEFOTAXIME	129		256-0,06	0,309	86,8
CEFTAZIDIME	129		256-0,06	0,353	33,4
OXACILLINE *	15		256-0,06	0,080	1

* Les CMI de la P,nicilline G concernent les cocci

* celles de l'oxacilline sont restreintes aux S. aureus.

Tableau 5 : Pourcentage de sensibilit, de l'ensemble des
souches vis ... vis des diff,rents antibiotiques

ANTIBIOTIQUES	SENSIBLE	INTERM.	RESISTANT
---------------	----------	---------	-----------

RO-40-6890	85,75	3,15	11
CEFTRIAXONE	80,6	7	12,4
CEFUROXIME	66,8	12,6	20,6
AMOXICILLINE +			
ACIDE CLAVULANIQUE	47,2	7,05	45,75
CIPROFLOXACINE	94,3	3,85	1,8
CEFOTAXIME	79,7	8,6	11,7
CEFTAZIDIME	71,65	14,5	13,85
PENICILLINE G *	80	16,4	3,6
OXACILLINE *	86,7	13,3	-

PENICILLINE G test,e sur les cocci

OXACILLINE test,e sur les staphylocoques

Tableau 6 : Effectifs cumulés de l'ensemble des souches en fonction des CMI de chaque antibiotique

CONCENTRATIONS	0,06	0,125	0,250	0,500	1	2	4	8	16	32	64	128	256
ANTIBIOTIQUES													
RO.40-6890	64	77	80	87	94	100	110	112	114	116	119	125	129
CEFTRIAXONE	61	77	80	81	87	91	103	109	111	116	117	122	129
CEFOTAXIME	55	69	69	78	85	100	103	107	112	113	117	120	129
CEFTAZIDIME	29	47	61	70	72	79	92	102	112	116	123	123	129
CEFUROXIME	17	19	21	28	47	58	66	74	92	101	114	114	129
PENICILLINE G *	39	43	48	50	51	52	52	55	-	-	-	33	35
AMOXYCILLINE + Ac. CLAVULANIQUE	16	19	27	37	38	47	54	62	73	79	81	89	129
OXACILLINE *	10	11	13	13	13	15	-	-	-	-	-	-	-
CIPROFLOXACINE	83	91	97	98	122	127	127	128	129	-	-	-	-

*Penicilline G : test,e sur les cocci
 *oxacilline : test,e sur les staphylococcus aureus

1.1. Activit,s des c,phalosporines

1.1.1. LA RO-40-6890

Elle est active sur 85,75 % des souches, 3,15 % pr,sentent une sensibilit, interm,diaire, tandis que 11 % sont r,sistantes. Si la CMI 50 (0,104 æg/ml) est int,ressante, la CMI 90 (35,2 æg/ml) l'est relativement ... cause de l'importance de la resistance de P. aeruginosa Cette sensibilit, a ,t, jug,e sur la base des valeurs critiques des CMI de cet antibiotique (tableau 7).

Tableau 7: valeurs critiques des CMI de la RO-40-6890

```

ÚAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA;
³ Sensibilit, r,elle          CMI inf ou = 4æg/ml          ³
ÃAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA´
³ Sensibilit, interm,d.      4æg/ml inf CMI inf ou = 32 æg/ml ³
ÃAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA´
³ R,sistance                CMI sup 32 æg /ml          ³
ÀAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAÛ

```

1.1.2. LA CEFTRIAXONE

Le tableau des valeurs critiques des CMI (tableau 8) et les r,sultats obtenus montrent que :

- 80 % des souches test,es sont sensibles
- 20 % pr,sentent une sensibilit, interm,diaire
- 20 % sont r,sistantes

La CMI 50 est tršs int,ressante (0,105 æg/ml) et la CMI 90 l'est moins (35,2 æg/ml).

Tableau 8: Valeurs critiques des CMI de la Ceftriaxone

```

ÚAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA;
³ Sensibilit, r,elle          CMI inf ou = 4          ³
ÃAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA´
³ Sensibilit, interm,diaire    4 inf CMI inf ou = 32 ³
³AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA´
³ R,sistance                  CMI sup 32          ³
ÀAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAÛ

```

1.1.3. LE CEFOTAXIME

La CMI 50 (0,3 æg/ml) et la CMI 90 (86,8 æg/ml) sont moyennes compar,es ... celles des autres antibiotiques. Son ,fficacit, est assez bonne(80 % de sensibilit,). Ces diff,rentes interpr,tations tiennent compte des valeurs critiques des CMI de la Cefotaxime (Tableau 9) lesquelles valeurs ont permis de dire

II.1.2. Activit,s des p,nicillines

1.2.1. LA PENICILLINE G

Elle n'a ,t, test,e que sur les cocci. Les diff,rents r,sultats montrent que 80 % des souches test,es sont sensibles, 16,4 % pr,sentent une sensibilit, interm,diare, 3,5 % sont r,sistantes. La CMI 50 est tršs int,ressante : 0,096 æg/ml de m^me que la CMI 90 qui est de 3 æg/ml.

Tableau 12: valeurs critiques des CMI (æg/ml) de P,nicilline G

³ Sensibilit, r,elle	CMI inf ou = 0,25	³
³ Sensibilit, interm,diare	16 inf CMI inf ou = 16	³
³ R,sistance	CMI sup 16	³

1.2.2. L'OXACILLINE

Dans cette ,tude, l'oxacilline n'a ,t, test,e que sur 15 staphylococcus aureus, ce qui a montr, 86,7 % de sensibilit,, 13,3 % pr,sentent une sensibilit, interm,diare, pas de resistance. La CMI 50 (0,080 æg.ml) et la CMI 90 (1,069 æg/ml) sont toutes int,ressantes.

Tableau 13 : valeurs critiques des CMI (æg/ml) de l'oxacilline

³ Sensibilit, r,elle	CMI inf ou = 0,25	³
³ Sensibilit, interm,diare	0,25 inf CMI inf ou = 16	³
³ Resistance	CMI sup 16	³

1.2.3. L'AMOXICILLINE + L'ACIDE CLAVULANIQUE

Sur l'ensemble des souches, c'est l'antibiotique le moins actif car seulement 47,2 % sont sensibes. Les CMI 50 (9,491 æg/ml) et CMI 90 (> 256 æg/ml) sont les plus ,lev,es.

Tableau 14 : Valeurs critiques de l'association Amoxicilline + acide clavulanique.

³ Sensibilit, r,elle	CMI inf ou = 4	³
----------------------	----------------	---

3 Sensibilit, interm, diaire 4 inf CMI inf ou = 16 3
 3 R, sistance CMI sup 16 3

1.3. Activit, des Quinolones

Dans ce travail, seule la ciprofloxacin a , t, test, e.

LA CIPROFLOXACINE

Elle pr, sente une trs bonne activit, aussi bien sur l'ensemble des souches (94,3 % de sensibilit,) que sur les differents groupes consider, s Sur l'ensemble des souches, 64,3 % sont sensibles ... une concentration inf, rieuse ou , gale ... 0,06 æg/ml. Les CMI 50 (0.089æg/ml) et CMI 90 (1.6æg/ml) de cet antibiotique sont les meilleures .

Tableau 15 : valeurs critiques des CMI (æg/ml) de la ciprofloxacin

3 Sensibilit, r, elle CMI inf ou = 1 3
 3 Sensibilit, interm, diaire 1 inf CMI inf ou = 4 3
 3 R, sistance CMI sup 4 3

2. Activit, des antibiotiques sur les diff, rents groupes consid, r, s

2.1. Les bacilles ... Gram n, gatif

Tableau 16 : Pourcentage de sensibilit, (S), de sensibilit, interm, diaire (I) et de r, sistance (R) en fonction des diff, rents antibiotiques

3 BACILLES GRAM 3 ENTERO- 3

NEGATIF BACTERIES COCCI									
ANTIBIOTIQUES S I R S I R S I R									
RO.40-6890	77	2,7	20,3	87,5	3,6	8,9	94,5	3,6	1,8
CEFTRIAXONE	75,7	1,3	23	83,9	-	16,1	85,5	12,7	1,8
CEFOTAXIME	70,3	8,1	21,6	80,4	7,1	12,5	89,1	9,1	1,8
CEFTAZIDIME	79,7	10,8	9,5	83,9	3,6	12,5	63,6	18,2	18,2
CEFUROXIME	50	21,6	28,4	41,1	23,2	35,7	83,6	3,6	12,7
AMOXICILLINE +									
Ac. CLAV.	16,2	6,8	77	7,1	8,9	84	78,2	7,3	14,5
CIPROFLOXACINE	95,9	4,1	-	96,4	3,6	-	92,8	3,6	3,6
PENICILLINE G	-	-	-	-	-	-	80	16,4	3,6
OXACILLINE *	-	-	-	-	-	-	86,7	13,3	-

Les r,sultats de l'oxacilline ne concernant que les souches de S. aureus.

Tableau 18 : CMI 50 et CMI 90 (µg/ml) en fonction des diff,rents groupes et de chaque antibiotique

CMI 50 CMI 90									
ANTIBIOTIQUES BGN ENTERO COCCI BGN ENTERO COCCI									
RO.40-6890	0,1	0,1	0,2	67	9	6,7			
CEFTRIAXONE	0,1	0,1	0,2	144	38,4	5,7			
CEFOTAXIME	0,1	0,1	0,6	112	72	3,5			
CEFTAZIDIME	0,4	0,3	1,7	88	26,7	28,4			
CEFUROXIME	21,4	7,9	0,5	117	76	17,6			
AMOXICILLINE +									
AC. CLAVULANIQUE	96,7	115	0,3	231,8	228,6	26,7			
CIPROFLOXACINE	0,1	0,2	0,2	0,2	1,4	1,7			

La ceftazidime, active sur 63,6 % des espèces, avec une CMI50 non négligeable de 1,7 µg/ml est néanmoins la céphalosporine la moins active.

- Les Pénicillines.

Avec la pénicilline G, 80 % des souches sont sensibles, 16,4 % ont une sensibilité intermédiaire et 3,5 % sont résistantes. La CMI50 (0,096 µg/ml) de même que la CMI90 (3 µg/ml) sont intéressantes. Il en est de même avec l'amoxicilline + acide clavulanique qui a inhibé 78 % des cocci.

3. ACTIVITE DES DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES SUR LES DIFFERENTES ESPECES.

3.1. Escherichia coli

Les résultats relatifs à cette espèce sont répertoriés dans les tableaux 19, 20 et la figure 10. Dix souches ont été testées et elles proviennent toutes de la sphère ORL.

Les Céphalosporines

Les céphalosporines de 3^{ème} génération que sont la RO.40-6890, la ceftriaxone, la cefotaxime et la ceftazidime ont respectivement inhibé 70 %, 60 %, 60 % et 80 % des souches. La cefuroxime n'est active que sur 20 %. Les CMI varient dans toute la gamme (0,06 ... 256) .

Les Penicillines

Seule l'amoxicilline en association avec l'acide clavulanique a été testée sur les bacilles, et 20 % seulement des souches sont sensibles ... l'action de cet antibiotique par rapport ... 70 % de résistance pour des CMI variant entre 2 et 256 µg/ml.

Les Quinolones : la ciprofloxacine

Toutes les souches sont sensibles ... l'action de cet antibiotique dont 90 % ... des concentrations comprises entre 0,06 et 0,25 µg./ml.

Tableau 19 : Activit, des antibiotiques t,st,s

sur les 10 souches d'E. Coli

ANTIBIOTIQUES	% S	% I	% R	CMI50	CMI90
RO.40-6890	70	10	20	1.375	128 - 256
CEFTRIAXONE	60	-	40	2.25	153
CEFUROXIME	20	10	70	32	204
AMOX + AC. CLAV	20	10	70	140	>256
CIPROFLOXACINE	100	-	-	0.2	1.7
CEFOTAXIME	60	20	20	8	148
CEFTAZIDIME	80	-	20	0.9	146

Tableau 20 : Effectifs cumul,s des 10 souches d'E. Coli

en fonction des CMI (æg/ml) des 7 antibiotiques

ATB	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
RO.40	-	3	5	5	5	6	7	7	8	8	8	8	10
CEFTR	1	2	4	4	5	5	6	6	6	8	8	8	10
CEFUR	-	-	-	-	1	2	2	2	3	4	8	8	10
AUGME	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	2	4	10
CIPRO	3	3	4	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10
CEFOT	3	6	6	6	6	6	6	6	8	8	8	8	10
CEFTA	-	3	4	4	4	6	6	8	8	8	8	8	10

3.2. Klebsiella

Elles sont au nombre de 19 dont :

16 *Klebsiella pneumoniae*

3 *Klebsiella oxytoca*

Elles proviennent exclusivement de la sphère ORL.

Les c,phalosporines

Toutes les souches sont sensibles ... l'action de la RO.40-6890 pour des concentrations comprises entre moins de 0,06 et 4 æg/ml. Il en est de même pour la ceftriaxone. Avec ces deux antibiotiques, 89,5 % des souches sont inhib,es ... une concentration inf,rieures ou ,gales ... 0,06 æg/ml. La cefotaxime et la ceftazidime sont moins actives en inhibant 60 et 80 % des souches tandis que la cefuroxime n'est active que sur 20 %.

Les Penicillines

Le complexe amoxicilline-acide clavulanique n'a inhib, que 5,3 % des souches et ... des concentrations comprises entre 8 et 256 æg/ml.

Les Quinolones

La ciprofloxacin e a inhib, l'ensemble des souches ... des concentrations comprises entre moins de 0,06 æg.ml et 0,5 æg/ml dont 94,7 % ... une concentration inf,rieure ou ,gale ... 0,06 æg/ml.

3.3. Proteus mirabilis

Ils sont au nombre de 10 et proviennent d'urines.

Les cephalosporines

La RO.40-6890 semble être le meilleur antibiotique en inhibant 70 % des proteus, par rapport ... la ceftriaxone (60 %), la cefotaxime (60 %). La ceforoxime n'est active que sur 50 %.

RO.40-6890 et ceftriaxone inhibent 60 % des souches ... des concentrations inférieures ou égales ... 0,06 µg.ml.

Dans tous les cas, les concentrations ont atteint la valeur extrême de 256 µg.ml.

Les Penicillines

L'activité, de l'association amoxicilline - acide clavulanique est très faible puisque seulement 10 % des souches sont sensibles et ... des concentrations comprises entre 2 et 16 µg/ml).

Les Quinolones

L'action de la ciprofloxacine révèle 80 % de sensibilité, et 20 % de sensibilité intermédiaire ... des concentrations comprises entre 0,06 et 2 µg/ml. 60 % des souches sensibles le sont ... des concentrations inférieures ou égales ... 0,06 µg/ml

3.4 Salmonella

Au nombre de 17, les salmonelles sont ainsi réparties :

- 13 Salmonella typhi dont 12 proviennent d'h,ocultures et 1 d'une coproculture
- 4 Salmonella sp dont 3 sont isol,es d'h,oculture et la 4^e d'une coproculture

Les cephalosporines

La RO.40-6890 et la ceftriaxone, la cefotaxime et la ceftazidime ont m[^]me activit, : 94,1 % de sensibilit, et 5,9 % de r,sistance.

Les Penicillines

Avec 100 % de r,sistance, l'association amoxicilline + acide clavulanique est l'antibiotique le moins actif.

Les 17 souches sont inhib,es avec une concentrations de 256 æg/ml.

Les CMI 50 et CMI 90 sont donc sup,rieures ... 256 æg/ml.

Les Quinolones

La ciprofloxacine inhibe l'ensemble des souches ... des concentrations inf,rieures ... 0,06 æg/ml. Ainsi, il s'avŠre ^tre l'antibiotique le plus efficace avec des CMI 50 et CMI 90 inf,rieures ... 0,06 æg/ml.

3.5 Haemophilus influenzae b

Huit (8) souches ont été testées.

Les cinq (5) proviennent de liquide céphalorachidien (LCR) et les trois (3) de Pus d'arthrite.

Cephalosporines

La RO.40-6890 inhibe 75 % des souches ... une concentration inférieure ... 0,06 µg/ml. Il en est de même avec la ceftriaxone

Le cefotaxime n'a cette action que sur 25 % des souches.

Cependant, avec la ceftriaxone comme la RO.40-6890, toutes les souches sont sensibles contre 87,5 % avec le cefotaxime et la ceftazidime

Le cefuroxime révèle 50 % de sensibilité, et ... des concentrations supérieures ou égales ... 0,5 µg/ml.

Les Penicillines

L'amoxicilline associée ... l'acide clavulanique présente une bonne activité, avec 87,5 % de sensibilité, mais ... des concentrations supérieures ou égales ... 0,5 µg/ml.

Les Quinolones

Très bonne activité, de la ciprofloxacine: 100 % de sensibilité, ... des concentrations comprises entre moins de 0,06 µg/ml et 0,125 µg/ml.

3.6 Pseudomonas aeruginosa

Dix (10) souches ont été testées dont :

7 proviennent de Pus d'otite

3 proviennent de la sphère ORL

Les céphalosporines

Vis-à-vis de la RO.40-6890 toutes les souches sont résistantes. Ce pourcentage de résistance est de 80 % avec la ceftriaxone, 90 % avec la cefotaxime et 100 % avec la cefuroxime.

Avec ce dernier antibiotique, les Pseudomonas résistent ... des concentrations supérieures ou égales ... 256 µg/ml.

Les pénicillines

L'activité de l'amoxicilline associée ... l'acide clavulanique est très faible ... 90 % de résistance.

Les quinolones

La ciprofloxacine présente une très bonne activité, avec 90 % de sensibilité, ... 0,06 µg/ml.

3.7 Les Staphylocoques

Les cephalosporines

La RO.40-6890 a la meilleure activit, avec 91,3 % de sensibilit, ... des concentrations comprises entre 0,06 et 8 æg/ml, alors que 69,6 % des souches le sont ... ces m^mes concentrations avec le ceftriaxone.

La ceftriaxone, la ceftazidime et le cefuroxime ont respectivement inhib, 69,6 %, 43,5 % et 78,3 % des staphylocoques.

Les penicillines

La penicilline G est active sur 73,9 % des souches, l'association amoxicilline + acide clavulanique sur 60,9 %. Ces activit,s sont donc relativement int,ressantes. Il en est de m^me pour l'oxacilline dont l'activit, r,všle 86,7 % de sensibilit, sur les S. aureus.

Les quinolones

La ciprofloxacin pr,sente une bonne activit, (91,3 % de sensibilit, entre 0,06 et 8 æg/ml).

3.8 Les Streptocoques

Les cephalosporines

La RO.40-6890 et la ceftriaxone ont le m[^]me comportement : elles inhibent 96,9 % des streptocoques donc tr[^]s bonne activit,.

Cette action est remarquable vis ... vis des streptococcus pneumoniae : 100 % de sensibilit, ... des concentrations inf,rieures ... 0,06 avec la RO.40-6890, tandis que les concentrations sont inf,rieures ou ,gales ... 0,125 avec le ceftriaxone.

Ce qui n'est pas le cas avec les streptocoques A et G chez qui les concentrations varient entre 0,06 et 32 æg/ml.

Avec le cefotaxime et la ceftazidime, les concentrations varient respectivement entre 0,06 et 2 æg/ml, et entre 0,06 et 0,5 æg/ml vis ... vis des streptococcus pneumoniae ce qui n'est pas le cas avec les streptocoques A et G puisque les concentrations vont jusqu'... 128 et 256 æg/ml. Ces deux antibiotiques inhibent 93,8 % et 78,1 % des souches.

De m[^]me, le cefuroxime est plus active sur les streptococcus pneumoniae que sur les autres. Avec cet antibiotique 87,5 % des souches sont sensibles.

Les penicillines

La penicilline G a une bonne activit, avec 84,4 % de sensibilit, pour l'ensemble et 100 % chez les streptococcus

pneumoniae et ... des concentrations inf,rieures ... 0,06 æg/ml.

L'amoxicilline + l'acide clavulanique est active sur 90,6 % des souches avec pr,dominance d'action sur streptococcus pneumoniae avec de basses CMI (0,06 > CMI > 0,5)

Les quinolones

L'ensemble des streptococcus pneumoniae sont inhib,s ... des concentrations inf,rieures ou ,gales ... 1 æg/ml, alors que cette fourchette va jusqu'... 16 æg/ml avec les autres streptocoques .Dans l'ensemble, 93,8 % des streptocoques sont inhib,s.

- 6 Pseudomonas sur 10 test,s
- 7 Staphylocoques sur 23 test,s
- 2 Streptocoques sur 32 test,s

La b[^]ta-lactamase ... spectre ,largi a ,t, d,tect,e sur six souches (5 Salmonelles et 1 Proteus).

La sensibilit, des diff,rentes esp[^]ces bact,riennes selon qu'elles s,cr[^]stent ou non une b[^]ta-lactamase (Tableau) montre que la RO.40-6890, la ceftriaxone, le cefotaxime et la ceftazidime ont respectivement inhib, 25, 25, 26 et 27 des 39 souches b[^]ta-lactamase positives, tandis que la cefuroxime est plus sensible ... l'action de l'enzyme puisque 27 de ces souches sont r,sistantes.

Tableau 38: SENSIBILITE DES DIFFERENTES ESPECES EN FONCTION DE LA BETA LACTAMASE

Ú	B [^] ta	SOUCHES	lact	Nb	RO40	CEFTR	CEFOT	CEFTA	CEFUR	AUGM	PENI	CIPRO
E. coli	+	6	3	3	3	3	3	4	0	0	-	5
n= 10	-	4	4	3	3	3	4	2	2	-	4	
Klebs.	+	10	10	10	9	10	5	0	-	10		
n= 19	-	9	9	9	9	8	7	1	-	9		
Proteus	+	3	3	1	1	1	1	0	-	10		
n= 10	-	7	7	6	5	5	4	1	-	9		
Salmo.	+	6	5	5	6	6	0	0	-	6		
n= 17	-	11	11	11	11	11	3	0	-	11		
Haemop.	+	3	-	3	-	3	-	3	-	3	-	3

n= 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudo.	+	6	0	0	0	1	0	0	-	4				
n= 10	-	4	0	1	0	1	0	0	-	3				
Staph.	+	7	5	5	6	4	5	0	6	7				
n= 23	-	16	14	12	13	6	13	13	11	14				
Strept.	+	2	1	1	1	1	1	0	0	0				
A et G	-	12	12	12	11	7	8	11	9	12				

Tableau 39 : Activit, des antibiotiques en fonction de la b^ta lactamase

ANTIBIOTIQUES	SOUCHES BETA LACTAMASE "+"			SOUCHES BETA LACTAMASE "-"		
	S	I	R	S	I	R
RO-40-6890	71,5	3,15	25,35	86,1	0,14	13,76
CEFTRIAXONE	61,72	6,5	31,78	80,54	-	19,46
CEFUROXIME	34,22	7,88	57,9	56,36	17,4	26,24
AMOXACILLINE + Ac. CLAV.	2,38	13,86	83,37	39,68	3,33	56,99
PENICILLINE G	42,85	57,15	-	71,9	21,85	6,25
CIPLOFLOXACIN	50	25	25	93,75	3,12	3,13
CEFOTAXIME	67,85	32,15	-	86,5	13,5	-
CEFTAZIDIME	58,45	20,3	21,25	70,34	13	16,66
OXACILLINE *	100	-	-	80	20	-

* PENICILLINE G et OXACILLINE n'ont ,t, test,s que sur les staphylocoques.

S = Sensible I = Interm, diaire R = R, sistant

Tableau 40 : BETA LACTAMASES ET MULTIRESTANCE

ESPACES BACTERIENNES	Souches multi R		Souches b^ta lactamase positives	
	Nbre (nbre)	(nbre)	(nbre)	(%)
E. coli	10	6	5	83,3
Klebsiella	19	2	2	100
Proteus	10	4	2	50
Salmonella	17	6	5	83,3
Haemophilus	8	0	-	-
Pseudomonas	10	10	6	60
Staphylococcus	23	3	2	66,7
S. pneumoniae	18	0	-	-
Strepto A et G	3	3	1	33,3

6. LA RESISTANCE HETEROGENE

Sur les 23 Staphylococcus, cinq pr, sentent une r, sistance h, terog, ne (trois S.aureus et deux S.epidermidis), soit 21,7 %.

Tableau 41 : Activit, des antibiotiques en fonction de la r, sistance h, t, rogŠne.

ANTIBIOTIQUES	RESISTANCE HETEROGENE "+"			RESISTANCE HETEROGENE "-"		
	S	I	R	S	I	R
RO-40-6890	100	-	-	88,9	11,1	-
CEFTRIAZONE	80	20	20	66,7	33,3	-
CEFUROXIME	80	-	20	83,3	11,1	5,55
AMOXACILLINE + Ac. CLAV.	80	-	20	50	22,2	27,8
PENICILLINE G	66,7	33,3	-	61,1	5,55	-

3CIPROFLOXACIN 3 80 3 20 3 - 3 94,45 3 - 3 5,55 3
 3CEFOTAXIME 3 80 3 20 3 - 3 83,3 3 16,7 3 - 3
 3CEFTAZIDIME 3 60 3 - 3 40 3 38,9 3 38,9 3 22,2 3

CHAPITRE III: DISCUSSION

Les différents résultats que nous avons trouvés feront l'objet d'une comparaison avec d'autres, afin d'évaluer l'évolution du comportement des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des différents antibiotiques. D'autre part, et sur le même principe, cette discussion portera aussi sur la multirésistance et la sécrétion de bêta lactamases. Et tout au long nous confrontons les résultats obtenus avec la RO.40-6890 avec ceux des autres antibiotiques.

1 - ACTIVITE DES ANTIBIOTIQUES ET COMPARAISON.

Comme nous l'avons fait depuis le début, les différents antibiotiques seront regroupés selon leurs affinités, de même que les souches bactériennes.

1.1 - LES CEPHALOSPORINES.

1.1.1- Sur l'ensemble des souches.

La RO.40-6890 donne les mêmes valeurs de CMI 50 et CMI 90 (0,1 et 35,2 µg/ml) que la ceftriaxone. Ainsi, elles seraient les meilleurs cephalosporines devant le cefotaxime et la ceftazidime qui ont la même CMI 50 (0,3 µg/ml) et des CMI 90 respectivement, égales ... 86,8 et 33,4 µg/ml. Le cefuroxime, cephalosporine de deuxième génération est la moins active (CMI 50 = 4 µg/ml, CMI 90 = 136 µg/ml).

1.1.2 - Sur les bacille ... Gram négatif.

Les cephalosporines de troisième génération (ceftriaxone, cefotaxime et ceftazidime) ont présent, une très bonne activité, et ceci est conforme aux données de la littérature (13, 31, 38). Ainsi, la RO.40-6890 a sa place au sein de ce groupe vu les pourcentages de souches inhibées, les effectifs cumulés et l'intervalle des CMI. Les valeurs de CMI 50 et CMI 90 (0,096 et 67 µg/ml) en font une molécule très active sur ces bacilles ... Gram négatif si nous nous référons ... nos résultats et ceux de la littérature.

1.1.2.1- Sur les enterobacteries.

Dans une étude comparative du ceftriaxone et de la ceftazidime (16), 85 % des enterobacteries ont été inhibées ... une concentration inférieure ou égale ... 4 µg/ml avec des CMI 50 et CMI 90 de 9 µg/ml la RO est comparable ... cette cephalosporine de troisième génération qui est une référence.

- Escherichia. Coli.

Eke P. I et Rotimi VO dans une étude menée ... LAGOS (12) ont mis en évidence l'efficacité de la ceftazidime, ce qui est conforme ... nos résultats (80 % de sensibilité, ... 16 µg/ml). Cependant, d'autres études faites sur cette espèce et testant soit l'activité de diverses cephalosporines sur cette espèce (14, 16, 28) ont relevé des valeurs de CMI nettement inférieures aux nôtres. Ceci se justifie par le pourcentage de multirésistance (60%).

Néanmoins, en nous basant sur nos résultats, la RO.40-6890 est la meilleure des cephalosporines testées.

- Klebsielles.

Les résultats que nous avons obtenus sont conformes ... ceux de la plupart des études en ce qui concerne les cephalosporines sur cette espèce (17, 23, 27). Ainsi, nous pouvons confirmer l'activité de la RO.40-6890 qui offre par ailleurs des valeurs de CMI, une CMI 50 et une CMI 90 très basses, un intervalle de CMI très intéressant (0,06 - 4 µg/ml)

- Proteus.

L'importance de la résistance au sein de cette espèce serait ... l'origine des écarts de CMI par rapport ... celles d'autres travaux. Si nos valeurs limites pour les différentes cephalosporines sont comprises entre 0,06 et

256 µg/ml, celles d'autres études sont très largement inférieures avec des CMI maxi de 2 µg/ml (38), des CMI moyennes de 0,015 et 0,0031 µg/ml, ou des valeurs extrêmes comprises entre 0,03 et 4 µg/ml (28) d'autres études font état d'une excellente

sensibilité, de cette espèce (11, 27, 28). Les céphalosporines que nous avons testées se sont révélées intéressantes compte tenu des CMI 50. La RO.40-6890 avec une CMI 90 de 102 µg/ml serait la meilleure céphalosporine.

- Salmonelles.

Les différents travaux consultés reflètent une bonne activité, de ces céphalosporines sur les Salmonelles (8, 28, 38). Les CMI moyennes du cefuroxime et du cefotaxime dans une étude de V. JARLIER (27) sont respectivement 2-4 µg/ml et 0,025 - 0,05 µg/ml. Dans cette étude, le phénotype sauvage est de 70 ... 90 % chez Salmonella. Ces résultats sont similaires aux nôtres, car les différentes céphalosporines que nous avons testées, ... l'exception du cefuroxime, ont une CMI 90 < 0,3 et une CMI 50 < 0,06.

Sur les souches de Salmonella, le comportement de la RO.40-6890 est identique ... celui des autres céphalosporines de troisième génération testées (94,1 % de sensibilité, et 5,9 % de résistance). Ces résultats sont ... peu près proches de ceux de SARR E. H. D (45) lors d'une évaluation de la sensibilité, des Salmonelles aux antibiotiques dans un Hôpital Pédiatrique de DAKAR.

1.1.2.2- Les autres bacilles ... Gram négatif.

- H. influenzae

Les différents résultats que nous avons obtenus reflètent ceux de la littérature qui font état de l'excellente efficacité, du groupe cefotaxime, ceftriaxone (9, 14, 16) de la ceftazidime (13). Tandis que l'activité, du cefuroxime serait moins intéressante compte tenu de ces mêmes références, l'intervalle des valeurs des CMI de la RO.40-6890 (0,06 - 2 µg/ml) et la CMI 90 (1,25 µg/ml) montrent qu'elle est plus active que la ceftriaxone jusque ... considérée comme l'une des céphalosporines de troisième génération les plus actives sur cette espèce.

- Pseudomonas aeruginosa.

Les divers travaux relatifs ... l'activité, des céphalosporines sur cette espèce relatent une très bonne sensibilité, ... la ceftazidime (14,32, 40, 42, 48), avec des CMI 50 et CMI 90 de 2 et 8 µg/ml. Ce qui, ... une dilution près serait conforme ... nos résultats.

La RO.40-6890, comme le ceftriaxone et le cefotaxime présentent des CMI 90 comprises entre 128 et 256 µg/ml. Même si ces valeurs sont légèrement plus élevées que celles de différents travaux, l'inactivité, de ces céphalosporines est mise en évidence.

1.1.3. Sur les Cocci.

Avec des valeurs de CMI comprises entre 0,06 et 16 µg/ml, le cefotaxime serait la meilleure céphalosporine de la gamme, suivi ... la différence d'une dilution par la RO.40-6890 et le ceftriaxone (0,06 - 32 µg/ml). Ensuite, c'est le cefuroxime (0,06 - 64 µg/ml). Enfin la ceftazidime avec des CMI variant entre 0,06 et 128 µg/ml serait la moins active.

- Sur les Staphylocoques.

La bonne activité, du cefotaxime vis ... vis de *S. aureus* relatée dans certaines études (42), et celle du cefuroxime (5, 13) sont confirmées par nos résultats. Il en est de même pour la ceftriaxone. Dans tous les cas, la seule différence porte sur les valeurs de CMI 90 qui sont trois ... quatre fois plus élevées que celles de la littérature. Les valeurs extrêmes de CMI et les CMI 50 sont sensiblement les mêmes. La RO.40-6890 a inhibé ces souches avec des concentrations de 0,06 ... 8 µg/ml avec une CMI 50 de 0,61 µg/ml et une CMI 90 de 5,6 µg/ml. Ces résultats sont superposables ... ceux du Dr P. HOHL (23) et font de cette molécule la meilleure céphalosporine parmi celles testées.

- Sur les Streptocoques.

Cefotaxime, cefuroxime et ceftriaxone sont considérés comme de très bons antistreptococciques d'après plusieurs travaux (3, 4, 5, 7, 16) avec des valeurs de CMI allant de 0,01 ... 0,2 µg/ml sur *Streptococcus pyogenes* et *S. pneumoniae*. Si les résultats que nous avons obtenus ne sont pas les mêmes en ce qui concerne les streptocoques A et G, les résultats avec les pneumocoques sont identiques ... ceux de la littérature. La RO.40-6890 est la meilleure des céphalosporines testées vis ... vis des pneumocoques pour les avoir inhibés tous ... la concentration de 0,06 µg/ml, ce qui recoupe les résultats du Dr HOHL (23). Pour les autres, les valeurs extrêmes sont relativement très intéressantes : 0,06 - 0,125 µg/ml pour la ceftriaxone, 0,06 - 0,5 µg/ml pour la ceftazidime, 0,06 - 1 µg/ml pour le cefuroxime et 0,06 - 2 µg/ml pour le cefotaxime. De même, les valeurs de CMI 50 et CMI 90 (0,06 et 0,3 µg/ml) que nous avons trouvées sont identiques ... celles des différents auteurs. Cependant, nous notons une différence avec les streptocoques A et G sur lesquelles nos valeurs de CMI varient entre 0,06 et 32 µg/ml pour la RO.40-6890 et le ceftriaxone, une marge supérieure de 64 µg/ml pour le cefuroxime, 128 µg/ml pour le cefotaxime et 256 µg/ml pour la ceftazidime. Ce qui est significativement élevé, par rapport aux valeurs de la littérature. Nous n'excluons pas un effet inoculum.

1.2 - LES PENICILLINES.

L'association amoxicilline-acide clavulanique a été testée sur les bacilles ... Gram négatif, tandis que sur les cocci, en plus de ce complexe, nous avons testé la pénicilline G.

1.2.1- Sur l'ensemble des souches.

Amoxicilline + acide clavulanique n'a inhibé que 47,2 % des souches, ce qui en fait l'antibiotique le moins actif de la gamme. Comparé ... la RO.40-6890 sur la base des CMI 90, ce complexe est au moins sept fois moins actif que la céphalosporine.

1.2.2- Sur les bacilles ... Gram négatif.

Les résultats de NDIAYE Y. K lors d'une étude réalisée en 1992 sur un ensemble de bacilles ... Gram négatif (38) vis ... vis de ce complexe sont : 18 % de sensibilité, 19 % de sensibilité intermédiaire et 63 % de résistance. Ces résultats sont sensiblement identiques aux nôtres : 16 %, 7 %, et 77 %

Vis ... vis de ce groupe, l'activité de la RO.40-6890 par rapport ... l'association amoxicilline-acide clavulanique est encore confirmée par 77 % de sensibilité, et une CMI 90 vingt cinq fois moins importante.

Sur les enterobacteries, le complexe amoxicilline-acide clavulanique est encore moins actif avec une CMI 90 de 228 æg/ml. Les CMI varient de 1 ... 256 æg/ml.

Toutes les Salmonelles sont r,sistantes, tandis qu'une seule souche est sensible chez chacune des trois autres enterobacteries. Ces r,sultats confirment la conclusion de V. JARLIER (27) : " les enterobacteries sont r,sistantes aux penicillines G et M".

Cette r,sistance peut être due :

- ... la m,diocre perm,abilit, de la paroi ... l',gard des b,ta lactamines.
- ... la production d'une b,ta lactamase chromosomique ... large spectre inactivant penicillines et cephalosporines.
- ... la production d'une cephalosporinase non inhib,e par l'acide clavulanique.

Les valeurs extrêmes de CMI de la RO.40-6890 (0,06 - 256 æg/ml, plus basses encore vis ... vis des klebsiellles (0,06 - 4 æg/ml) la favorisent devant l'association amoxicilline-acide calvulanique dans le choix d'une antibiotherapie.

Sur les autres bacilles ... Gram n,gatif, amoxicilline-acide calvulanique pr,sente une activit, assez int,ressante vis ... vis des haemophiles, conform,ment ... la litt,rature (21).

Sur P. aeruginosa, l'importance de la resistance (99 %) confirme plusieurs ,tudes sur la sensibilit, de cette espšce (22 - 40). Dans cette r,sistance, parmi les m,canismes mis en cause, pr,dominent mauvaise perm,abilit, de la paroi et secr,tion de b,ta lactamase. Si la RO.40-6890 maintient l'activit, d'une cephalosporine de troisišme g,n,ration sur les Haemophilus, il n'en est pas de même avec P. aeruginosa, espšce avec laquelle ses CMI varient de 32 ... 256 æg/ml, ce qui fait penser aux m,canismes de r,sistance pr,-cit,s.

1.2.3- Sur les cocci

Les diff,rents r,sultats t,moignent de la bonne activit, des penicillines sur les cocci comme le soutiennent plusieurs auteurs. L'excellente sensibilit, ... la penicilline G ... travers nos r,sultats serait en rapport avec l'absence de souches methi R, contrairement ... l',tude de TOURE A (50) sur les staphylocoques ... coagulase n,gatif au CHU de DAKAR.

Le pourcentage de sensibilit, de la RO.40-6890 (91,3 %) est de loin plus important que ceux de la penicilline G (73,9 %) et de l'amoxicilline + acide clavulanique (60,9 %). Les streptocoques sont encore plus sensibles ... l'action de ces penicillines avec 90,6 % de sensibilit, pour l'amoxicilline + acide clavulanique et 84,4 % pour la penicilline G. Ce pourcentage est plus int,ressant avec la RO.40-6890 (96,9 %) car elle a ,t, plus active sur les streptocoques A et G o- deux souches seulement sont r,sistantes ... son action sur les quatorze test,es.

L'emergence d'une r,sistance des pneumocoques ... la penicilline G relat,e par Appelbaum PC (3) n'est pas conforme avec nos r,sultats o- tous les pneumocoques sont sensibles ... moins 0,06 æg/ml. Le pourcentage de r,sistance ... la penicilline G sur les streptocoques (0 %) que nous avons trouv, confirme les r,sultats du Dr KASSE C (29) qui en fit le meilleur antibiotique de la gamme qu'il a test, en 1992 dans une ,tude de la sensibilit, des streptocoque aux antibiotiques au CHU de DAKAR.

1.3 LA CIPROFLOXACINE.

1.3.1 Sur l'ensemble des souches.

La ciprofloxacine pr,sente la meilleure activit,. la limite superieure des valeurs extr^mes le CMI n'est que de 16 æg/ml contre 256 æg/ml pour les autres antibiotiques.

1.3.2- Sur les bacilles ... Gram n,gatif.

Toutes les souches sont sensibles ... des concentrations comprises entre 0,06 et 2 æg/ml, les valeurs des CMI 50 et CMI 90 sont trřs int,ressantes (0,08 et 0,2 æg/ml) par rapport ... la RO.40-6890 (0,09 et 67 æg/ml).

Cette excellente activit, de la ciprofloxacine est une confirmation de plusieurs ,tudes(21,52)dont l'une(21) a abouti ... des resultats similaires aux n^tres (CMI < 1,156 æg/ml).

Sur les enterobacteries, l'intervalle des CMI est celui des bacilles ... gram negatif(0,06 - 2 æg/ml)tandis que

la RO.40-6890 a inhib, 9 enterobacteries entre 2 et 256æg/ml.Avec la Ciprofloxacine, les 17 Salmonelles sont inhib,es d'embl,e ... 0,06 æg/ml,les 8 haemophiles ... 0,125 æg/ml dont 6 ... 0,06 æg/ml, 9 des 10 pseudomonas(espece la plus resistente) ... la m^me concentration. Cette activit, particulireŠ sur P. aeruginosa confirme les resultats de BRYANT.R.E et HARTSTEIN A.I (6).

Sur les cocci, l'activit, de la ciprofloxacine est moindre. L'intervalle des CMI va jusqu'... 16 æg/ml,pour atteindre 32 æg/ml avec la RO.40-6890. Cependant les CMI 50 et CMI 90(0,16 et 1,7 æg/ml)prouvent une bonne action.

Sur les staphylocoques,son activit, est similaire ... celle de la RO.40-6890 tandis que cette derniřre semble plus active sur les pneumocoques en les inhibant tous ...0,06 æg/ml,alors qu'il a fallu 1æg/ml avec la ciprofloxacine pour cela.

2 - LA MULTIRESISTANCE.

Dans cette ,tude,26,3 % des souches sont résistantes au moins ... deux antibiotiques,avec pr,dominance chez les bacilles ... gram negatif(37,8%).

Sur la gamme d'antibiotiques t,st,s,la ciprofloxacine serait le meilleur(une seule souche est apparue resistente),ce qui est conforme ... une ,tude de son activit, sur les enterobacteries et les staphylocoques(52).

Le cefuroxime est l'antibiotique le plus fr,quent dans cette multiresistance.

En se ref,rant ... WIEDEMAN.B (53),on peut penser ... une cephalosporinase m,di,e par un chromosome et l'existence de mutants qui en produisent de grandes quantit,s. La fr,quence jumel,e des cephalosporines et des penicillines fait penser selon le m^me auteur ... une beta lactamase ... large sprctre.

La faible fr,quence de la ceftazidime est due ... son activit, particuliřre sur P.aeruginosa tant decrite dans la litterature (40,52)

Aprřs le cefuroxime,amoxicilline+acide clavulanique est l'antibiotique le plus rencontr, dans cette multiresistance.L'inactivit, de ce complexe serait due d'aprřs V.JARLIER(27)... une beta lactamase ... large spectre ou ... une cephalosporinase(non inhib,e par l'acide clavulanique).Cette derniřre hypothřse est d'ailleurs justifi,e par l'excellente activit, du complexe sur les cocci.

Par rapport aux especes bacteriennes,P.aeruginosa est la plus concern,e par cette multiresistance,confirmant ainsi les donn,es de la litterature sur l'inactivit, de la plupart des cephalosporines de troisiřme g,n,ration ... l'exception de la ceftazidime et du cefoperazone vis ... vis de cette espřce.

3 - LES BETA LACTAMASES

Vue l'importance de leur implication dans les ph, nomšnes de resistance relat,e par plusieurs auteurs(20, 23, 38, 45, entre autres), nous avons jug, necessaire de les rechercher.

Chez Salmonella et E.coli, le ph, notype est caracteris, par une r, sistance ... l'ampicilline et ... la carbenicilline, une sensibilit, ... la cefazoline et ... l'amoxicilline+acide clavulanique, ce qui fait penser ... une "penicillinase haut niveau" conformement aux conclusions de V.JARLIER(27) dans une ,tude relative ... l'activit, des beta lactamines sur les enterobacteries. Ce m^me phenotype concerne une souche de klebsielle. Parmi les cinq souches ayant donn, une image de synergie lors de la recherche de beta lactamase ... spectre , largi, une seule a donn, le ph, notype correspondant. Ceci nous fait penser ... l'hypothšse de TAKESHI YOKOTA(54) selon laquelle l'influence de l'enzyme est fonction de sa quantit, . Ce qui est verifi, par une souche de Proteus dont le profil antibacterien fait penser au ph, notype sauvage de JARLIER(27). Avec P.aeruginosa, 3 souches s, cršteraient une beta lactamase ... large spectre en inactivant les penicillines, les cephalosporines, et m^me le monobactam, comme le suggšrent A.PHILLIPON, A.THABAUT, et P.NEVOT(40) dans une ,tude des b^ta-lactamases de cette espšce. Les deux autres Pseudomonas, en inactivant uniquement les c, phalosporines, produisent une c, phalosporinase.

CONCLUSION

Au terme de cette étude comparative dont la majeure partie des résultats sont conformes aux données récentes de la littérature, la RO.40-6890, nouvelle céphalosporine de troisième génération présente toutes les qualités d'un antibiotique de ce groupe.

En effet, ... des concentrations relativement faibles, elle a été active sur l'ensemble des 129 souches testées. Son activité est surtout remarquable sur les bacilles ... Gram négatif et particulièrement vis-à-vis des Klebsielles, Salmonelles et Haemophiles. Les pneumocoques aussi sont très sensibles ... l'action de cette bêta lactamine.

Cependant, sur *P. aeruginosa*, son activité est similaire ... celle de ses homologues de la troisième génération des céphalosporines, c'est ... dire une activité modeste (... l'exception de la ceftazidime). Si nous considérons l'ensemble des antibiotiques testés, la RO.40-6890 présente un spectre d'activité identique ... celui du ceftriaxone sur les différents groupes considérés (ensemble des souches, bacilles Gram négatif, enterobactéries, cocci), mais aussi sur les différentes espèces (*E. coli*, Klebsielles, *Proteus*, Salmonelles, hémophiles, *Pseudomonas*, Streptocoques et Pneumocoques), ... l'exception des Staphylocoques sur lesquels la RO.40-6890 serait plus active. Ainsi donc, ces deux molécules si elles sont les meilleures des Céphalosporines testées, sont moins actives que la Ciprofloxacine vue les valeurs de CMI 50,

CMI 90 et les intervalles des CMI de cette quinolone dont la particularité est d'avoir inhibé 80 % des *Proteus mirabilis* et 90 % des *Pseudomonas aeruginosa*, espèces les plus résistantes de notre étude. Sur les cocci, la RO.40-6890 est plus active que la Ciprofloxacine sur les Streptocoques A et G, leurs activités étant identiques sur les Staphylocoques.

Comparée aux Penicillines, la RO.40-6890 est plus active que la Penicilline G sur les cocci, de même que l'association amoxicilline-acide clavulanique sur les différentes espèces.

D'autre part, le taux de multirésistance découlé dans ce travail est dans certains cas inquiétant (*E. coli*, *Pseudomonas*) et doit inciter ... la réflexion dans le choix d'une antibiothérapie, choix qui doit obligatoirement découler d'un antibiogramme. À part les dix souches de *P. aeruginosa* (classiquement résistantes aux céphalosporines de troisième génération ... l'exception de la ceftazidime), cinq enterobactéries et un streptocoque ont manifesté une résistance ... la RO.40-6890, confirmant encore ses qualités de Céphalosporine de troisième génération compte tenu de son spectre d'activité.

Enfin, la recherche de bêta lactamases à révéler, une sécrétion de pénicillinase par certaines souches, une céphalosporinase

ou une bêta lactamase ... spectre élargi par d'autres. La multirésistance de la plupart de ces souches met en évidence leur responsabilité dans l'inactivité des antibiotiques. Vis-à-vis de ces bactéries productrices de bêta lactamase.

La RO.40-6890 a une très bonne action qui est analogue ... celle du ceftriaxone, et moins importante que celle de la ciprofloxacine. Il serait néanmoins intéressant d'améliorer ses propriétés dans le sens de l'élargissement de son spectre ... *P. aeruginosae* et augmenter sa stabilité vis-à-vis des bêta-lactamases.

Cependant, des études pharmacologique, pharmacocinetique et clinique doivent compléter cette étude "in vitro", et si elles la confirmaient, la RO.40-6890 serait une cephalosporine de choix grâce à la voie d'administration orale. Sa prescription devrait alors tenir compte de la nécessité, d'un antibiogramme comme préalable, et en dernier recours.

BIBLIOGRAPHIE.

- 1 - ALLISTER. MC - MOCAN. TA - MURPHY. H - BEATTIE. TJ
Antibiotic susceptibility of staphylococci from CAPD
peritonis in children.
J. Antimicrob chemother, 1987 , 19 (1) , 95-100
- 2 - ANGEURN. P - HOLHL. P - HUBSCHWERLEN. C - PAGE. M and
THEN. R
Antibacterial properties of RO.40-6890, a broad spectrum
cephalosporin, and its novel orally absorbable ester
RO.41-3399
Antimicrob-Agents-Chemother, 1992, 36 (12),2825-34
- 3 - APPELBAUM. P. C.
World-wide development of antibiotic resistance in
pneumococci.
Eur. J. Clin Microbiol, 1987 , 6 (4), 367-77
- 4 - BERGOGNE. E - BEREZIN.
Activite antibacterienne de la Ceftriaxone.
La revue de Medecine Interne, 1985 , 6 , 178-186
- 5 - BINGEN. E
Mecanisme d'action des beta lactamines; de la structure
bacterienne ... la molecule.
Laboratoire Roussel, information medicale. Ed 44, Lyon
1986.
- 6 - BRYANT. R. E - HARTSTEIN. A. I.
Oral Ciprofloxacin in refractory Gram-negative bacillary
infections.
Int. J. Clin Pharmacol Res 1987 , 7 (3) , 1987-94
- 7 - BOSLEY. GS - ELLIOTT J.A - OXTOBY MJ - FACKLAM. RR
Susceptibility of relatively penicillin-resistant
Streptococcus pneumoniae to newer Cephalosporins
antibiotics.
Diagn Microbiol Infect Dis, 19 , 7 (1) , 21-7
- 8 - CARBONELLE. B - DENIS. F - MARMONIER. A - PINON. G
VARGUES. R
Bacteriologie medicale. Techniques usuelles
SIMEP, Paris, 1987
- 9 - CHERUBIN. CE - ENG. RH - NORRBY. R - MODAI. J -
HUMBERT. G - OVERTURF. G.
Penetration of newer cephalosporins into cerebrospinal
fluid.
Rev Infect Dis, 1989, 11 (4) , 526-48
- 10 - DIB. M
Intérêt des cephalosporines en antibiothérapie.
Th Pharm, DAKAR , 1989, n° 17
- 11 - DIENE P. M.

- Activit, antibacterienne "in vitro" de l'aztreonam sur les bacilles ... Gram n,gatif hospitaliers (Etude des CMI de 100 souches isol,es au CHU de DAKAR en 1986).
Th Pharm, DAKAR, 1986, Nø 78
- 12 - EKE. PI - ROTIMI. VO
In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of pathogenic bacteria to ten antibiotics including phosphomicin.
Afr. J. Med SC , 1987, 16 (1) , 1-8
- 13 - EUROPEAN STUDY GROUP ON ANTIBIOTIC RESISTANCE.
Susceptibility to beta lactam antibiotics in septicemia isolates from twenty-nine european laboratories.
Eur J. Clin Microbiol, 1987, 6 (5) , 515-20
- 14 - FALL. M. I.
Comportement vis ... vis des antibiotiques de 94 souches de S. aureus isol,es en situation pathogene au CHU de FANN DAKAR.
Th Pharm, DAKAR, 1992, Nø 83
- 15 - FLEURETTE. J
Bact,riologie M,dicale
Flammarion, Paris, 1982, 524.
- 16 - FRIMODT. N - MOLLER. S - HRASS. E - HOJBJERG. T
MORTENSEN. I ET FROLUND. T.V.
Ceftazidime and Ceftriaxone against clinically important pathogens : In vitro activity and regression Studies.
13 th international congress of chemotherapy Vienna, 1983.
- 17 - GASSAMA N. R.
Activit, antibacterienne "in vitro" de 4 cephalosporines (cephalotine, cefazoline, cefotaxime, ceftriaxone) sur 100 souches de bacilles ... Gram n,gatif isol,s au CHU de DAKAR.
Th Pharm, DAKAR, 1984, Nø 97
- 17 - GOLDSTEIN. F - KITZIS. M.D - GUTMANN. L - ACAR. J.F
Comparative activity of oral cephalosporins against beta lactamase producing pathogens.
Med. Mal infect, 1992 , 22 , 535-543.
- 19 - GUTMAN. L - GOLDSTEIN. F
Staphylocoques et b^ta lactamines
L'Antibiogramme.
MPC VIDEOM, Paris, 1985, 23-28
- 20 - HEMSELL. D. L.
Introduction of beta lactamase enzymes : clinical applications for the obstetric-gynecologic patients
Am. J obstet, 1987, 156 (2) , 504-6

- 21 - HESSEN. MT - INGERMAN. M. J - KAUFMAN. D. H - WEINER. P
SANTORO. J - KORZENIOWSKI. OM - BOSCIA. J - TOPIEL. M
BUSH. LM - KAYE. D ET AL.
Clinical efficacy of Ciprofloxacin therapy for Gram
negative bacillary osteomyelitis.
Am. J. Med, 1987, 27 , 82 (4A) , 262-5
- 22 - HISSEINE. A. A.
Evaluation de l'antibiotherapie au service des maladies
infectieuses du CHU de FANN DAKAR.
Th Pharm, DAKAR,1993, Nø 3
- 23 - HOHL. P
Laboratory instructions for "in vitro" dilution
antibacterial susceptibility testing using the
cephalosporin RO.40-6890 and for in vivo testing using
the cephalosporin ester Prodrug RO.41-3399 Labo. Roche.
Research report, 1991, Nø B 158'605.
- 24 - HOHL. P - ZOLLINGER. I - GRAVENITRA. J.V
In vitro activities of RO.40-6890 against 164
predominantly intestinal members of the families.
Enterobacteriaceae and vibrionaceae.
Antimicrob. Agents. Chemother, 1992 , 36 (12),2835-8
- 25 - HUBAN D. J.
Comparative activity of quinolones
Clin Invest Med, 1989, 12 (1) , 10-3
- 26 - JACOBY. G.A and CARRERAS. I
Activities of B^{ta} lactam antibiotics against
Escherichia coli strains producing extended spectrum
b^{ta} lactamases.
Antimicrob. Agents. Chemother, 1990, 34 (5),858-62
- 27 - JARLIER. V
Enterobacteries et b^{ta} lactamines.
L'antibiogramme.
MPC-VIDEOM, Paris, 1985 , 87-102
- 28 - JARLIER. V - BISMUTH. R - GROSSET. J
Cefotaxime,Maxalactam et Ceftriaxone : Comparaison de
l'activit, in vitro sur des souches hospitaliřres
d'enterobacteries appartenant aux quatre principaux

- phenotypes de sensibilit, aux beta lactamines.
Pathologie biologique, 1983, 31 (5) , 336-342
- 29 - KASSE. C.
Sensibilit, aux antibiotiques des souches de streptocoque
isol,es au CHU de DAKAR.
Th Pharm, DAKAR, 1992, Nø 94
- 30 - KAZUE. U
Bacteriological studies of sulbactam / cefoperazone.
Science Press, Seoul, 1986.
- 31 - KNAPP C. C ; WASHINGTON J. A.
Comparative activity of newer antibiotics against Gram
n,gative bacilli.
CLEVE CLIN / J. MED, 1989, 56 (2) , 161-6
- 32 - KORVICK J - YU. VL - HILF. M
Susceptibility of 100 blood isolates of P. aeruginosa to
19 antipseudomonal antibiotics : old and new.
Diagn Microbiol Infect Dis, 1987, 7, (2) , 107-11
- 33 - LE MINOR. L - VERON. M
Bact,riologie m,dicale
Flammarion,Paris,1982, 240-274.
- 34 - LIVERMORE. D.M
Penetration des b^ta lactamines dans E. coli, P.
aeruginosa et autres bacilles Gram n,gatif.
Rev Infect Dis, 1988, 10, (4), 691-8
- 35 - MACHKA. K - DIETZ. R
Comparative Synergistic activity of Ceftriaxone,
Pipereicillin Versus, Ceftriaxone, Netilmicin.
EUR.J.Clin.Microbiol, 1983, 496-500
- 36 - MERCER LJ.
Use of expanded spectrum Cephalosporins for the treatment
of obstetrical an gynecological infections.
Obstet Gynecol Surv, 1988, 43, (9), 569-75
- 37 - MOATTI. N
Les nouvelles beta lactamines.
Med.Mal.Inf, 1987, nøspecial , 43-48
- 38 - NDIAYE. Y. K.
Evaluation de la sensibilit, aux antibiotiques et de la
r,sistance par secretion de beta lactamases ... spectre
,largi de souches de bacilles Gram n,gatif isol,es au CHU
de DAKAR.
Th Pharm, DAKAR, 1993, Nø 95

- 39 - PETERSON. LR - MOODY. JA - FASCHING. CE - GERDING. DN.
Influence of protein binding on therapeutic efficacy of
Cefoperazone.
Antimicrob Agents Chemoter, 1989, 33, (4), 566 - 8
- 40 - PHILIPPON. A - THABAUT. A - NEVOT. P
Pseudomonas aeruginosa et beta lactamines.
L'antibiogramme
MPC-VIDEOM, Paris, 1985, 103-110
- 41 - PHILIPPON. A - PAUL. G - NEVOT. P
Les inhibiteurs de b^{ta} lactamases:
Principes theoriques et inter^t therapeutique.
La lettre de l'infectiologue, 1986, 1, (9), 253-258
- 42 - PUTHUCHEARY. S.D - GOLDSWORTHY
Ceftazidime and Cefotaxime, the clinician's choice
Clin Ther, 1989, 11, (2) , 186-204
- 43- REIMER. M
Roc, fine
Broch. Roc. Med, Paris, 1985
- 44 - SAGNA. M.O.
La place des B^{ta} lactamines dans l'antibioth,rapie.
Th Pharm, DAKAR, 1987, n^o 44.
- 45 - SARR. E.D.
Evaluation de la sensibilit, des salmonelles aux
antibiotiques dans un hopital p,diatrique africain:
recherche de plasmides et de b^{ta} lactamases ... spectre
,largi.
Th pharm, DAKAR, 1992, n^o 26
- 46 - SINGLES. E - ARTHAUD. A - SULTAN. E
Pharmacocinetique compar,e des inhibiteurs des b^{ta}
lactamases et des p,nicillines associ,es
La lettre de l'infectiologue, 1988, 3 , 1-3
- 47 - SOUSSY. C. J
Quinolones.
L'Antibiogramme.
MPC-VIDEOM, Paris, 1985 , 57-64
- 48 - THABAUT. A - MEYRAN. M
Nouvelles beta lactamines - Essai de classification,
Relation Structure Activit,.

- 49- THORNSBERRY. C
B^{ta}-lactamase inhibitors
Sc press, Seoul, 1986, 17-19
- 50 - TOURE. A.
Etude prospective des souches de staphylococcus ...
coagulase n,gative isol,es au CHU de DAKAR.
* Sensibilit, aux antibiotiques
* Phenotype de r,sistance aux b,ta lactamines.
Th Pharm, DAKAR, 1992, Nø 94
- 51 - VARLET. A - TAHON. M.M - BRULE. J.G.F - VALLEE. D
Isolement de deux souches de Proteus mirabilis
productrices de b^{ta}-lactamases ... spectre ,largi.
L'information du Technicien Biologiste 1989, 4 ,103-105
- 52 - WEINTEIN. RA - NATHON. C - DELZELL. O - KABINS. SA
In vitro susceptibility of nosocomial P. aeruginosa,
enterobacteriaceae and staphylococci to Ciprofloxacin and
ten other broad - spectrum antibiotics.
Chemoterapia, 1987, 6 (5) , 315-8
- 53 - WIEDEMANN. B
Plasmid-mediated extended spectrum beta lactamases
Med. Mal infect, 1992, 22 , 524-528.
- 54 - YOKOTA. T
Clinical and bacteriological studies on Sulbactam-
Cefoperazone.
Science Presse, Seoul, 1986 , 9-13
- 55 - YVON. M.B.
Les nouveaux aspects de la therapeutique antibiotique :
les inhibiteurs d'enzymes.
C.R socišt, de biologie, 1982, 176 (4) , 454

LISTE DES ABREVIATIONS

ab = Antibiotique
Ac CLAV = Acide Clavulamique
AMOX = Amoxicilline
AUGM = Augmentin
CEFOT = Cefotaxime
CEFTA = Ceftazidime
CEFTR = Ceftriaxone
CEFUR = Cefuroxime
CIPRO = Ciprofloxa = Ciprofloxacine
CSP = Cephalosporine
Pase = Penicillinase
Case = Cephalosporinase
Nb. = Nbre = Nombre
CMI = Concentration minimale inhibitrice
CMI50 = CMI n,cessaire pour inhiber 50 % des souches.
CMI90 = CMI n,cessaire pour inhiber 90% des souches.
PLP = Proteine de liaison aux penicillines.
6 APA = Acide 6 amino penicillanique
7 ACA = Acide 7 amino cephalosporanique

S = Sensible
I = Intermediaire
R = Resistant

H.A.L.D. = Hopital Aristide Le Dantec
C.H.U. = Centre Hospitalier Universitaire

B.G.T. = Bouillon Glucos, Tampon,
M.H = Milieu de Mueller Hinton

ANNEXE I

VU

LE PRESIDENT DU JURY

VU

LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR.

Ü€ € w • s •
ÿÿ®
n ¾
j Â

ÿÿÍ
f á
ÿÿ□
c ô□ ÿÿ□

ÿÿŸ

V@ Z@ x p@ u y@ r { @ o ^ @ l » @ i ù @ f û @ c 9A ` ; A] yA Z { A
W ^ A T V@ V □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ ^ A » A x ù A u û A
r 9B o ; B l yB i { B f ^ B c » B ` ù B] û B Z 9C W ; C T V@ V □ □
□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□; C yC x { C u ^ C r » C o ù C l û C
i 9D f ; D c yD ` { D] ~ D Z ^ D W ^ D T V@ V □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□
□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ ^ D » D x ù D u û D r ù D o □ E l □ E i

s ` □s] □s z ,m ýý □ □□6□□ □□6□□7□ □□ □□ □□□□ □□ □□□

□s □s x □s u -s r %s o &s l 8s i 9s f As c Gs ` Is] „s Z †s
W 's T □s Z □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□'s "s x ~s u žs
r s o ¯s l ³s i ;s f □t c
t `

t] □t Z Et W Gt T □s Z □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□Gt
,t x „t u ...t r 't o ;t l Át i üt f þt c ýt ` □u] 9u Z ;u W v
u T □s Z □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□vu xu x yu u „u r
³u o µu l ðu i òu f óu c þu ` -

v] /v Z jv W lv T □s Z □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□lv
mv x zv u Šv r ©v o äv l æv i çv f ÷v c !w ` #w] ^w Z `w W a
w T □s Z □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□aw lw x >w u •w r
Øw o Úw l Ûw i ëw f □x c □x ` Rx] Ýx Z Ö{ ýÿè{ W
} ýÿ□6□□ □□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □

} □} t %~ ÿÿ£~ q ,• ÿÿç• n ¨• ÿÿ¥• i ¬f g Åf b Ôf ^ Öf Y □,,
U □,, ÿÿ
} ÿÿ□□ a\$□ a\$□□ a\$□ □ □□ □ □ □□ □□ □□ □

□□,, 3,, w 7,, ÿÿM,, t □† ÿÿ2† q t† ÿÿv† n £^ ÿÿÑ^ i Û^ d J% a †%
^ ^% [%%% X □□ a□6□□ □□6□□ □□ □□□□ □□□□ □□ □□ □□ □□

%% £% x ¤% u ½% r ¾% o Ä% l Ä% i Æ% f []Š c []Š `@Š] BŠ Z ~Š
W €Š T %% X [] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]
r üŠ o 8< l :< i v< f x< c '< `ŕ<] ò< Z ô< W 0€ T %% X []6[]
[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]0€ 2€ x n€ u p€ r -€ o @€ l ê€
i ì€ f (• c *• `f•] h• Z ¤• W ¦• T %% X [] []6[] []6[] []6[] []
[]6[] []6[] []6[] []6[]!• â• x ä• u
ž r "ž o ^ž l `ž i œž f žž c ôž `xž] úž z üž w íž t %% X []6
[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]iž ÷ž x []• u []• r v• o X• l Y
• i s• f "• c -
• ` Ö•] ê• Z Q• W f• T %% X [] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]
[]f• Ê• x Ì• u Í• r â• o []` l
` i F` f H` c I` `^`] „` Z t` W Â` T %% X []6[] []6[] []6[] []6
[] []6[] []6[] []6[]Ä` Ä` x Ä` u ß` r ' o []' l >' i @' f A' c [
' ` |'] ~' Z °' W ¼' T %% X [] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]
[]¼' ½' x x' u ø' r ú' o 6" l 8" i 9" f S" c t" `v"] 2" Z °
" W ¼" ýÿ" T [] [] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]

□" □" ýý." x □- ýý□-
u E™ ýýb™ r d™ ýý%™ o E™ ýýç™ l t> ýý^> i □ž ýý¾ž f ôž ýý□Ý
c □6□□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□Ý Ö ýýé x f£ ýýµ£ u ¶£ ýýÄ£ r Ç£
ýýÛ£ o <¤ ýýž¤ l □! ýýC! i œ! ýýRS f VS ýýl\$ c □6□□ □□ □□ □□ □
□ □□ □□ □□ l\$ (" ýý<" x a^a ýýü^a u « ýý□« r Ô« ýýç« o -
® ýýN® l R® ýýW® i ^® f -
® c ¹® ` l\$ c □ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□¹® 4⁻ x =⁻ s ⁻ p á⁻ m
ç⁻ j \$° g &° d c° a e° ^ ç° [¤° X á° U ä° R -
® □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□ □□□□ □□ã°
± x "± u _± r a± o ž± l ± i Ý± f ß± c □² ` -²] [² Z]² W š²
T -
® □ □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□š² œ² x Û² u Ů² r □³ o
□³ l W³ i Y³ f -³ c ~³ ` Ö³] x³ Z □' W □' T -
® □ □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□□' S' x U' u ' ' r " ' o
Ň' l Ó' i □µ f □µ c Oµ ` Āµ] Öµ X P¶ U <¶ R -
® □6□□ □□ □□□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□<¶ •¶ x É¶ u Ě¶ r □· o
□· l C· i E· f €· c , · ` ½·] ¿· Z ú· W ü· T -
® □6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□ü· 7, x 9, u t, r v, o
±, l ³, i î, f ð, c +¹ ` -¹] h¹ Z j¹ W ¥¹ T -
® □6□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□¥¹ \$¹ x â¹ u ä¹ r -
° o !° l \° i ^° f ™° c >° ` Ö°] Ø° Z □» W □» T -
® □6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□□» P» x R» u •» r Ď» o
â» l é» g G¼ d •¼ a `¼ ^ ò¼ [ô¼ X Q½ U S½ R -
® □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□ □□□□ □□ □□6□□ □□6□□S½ °½ x ²½ u □¾ r □¾ o
n¾ l p¾ i Í¾ f Ī¾ c , ¿ ` .¿] <¿ Z •¿ W ê¿ T -
® □ □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ê¿ ì¿ x IÀ u KÀ r "À o
ªÀ l □Á i Á f ÁÁ c ÇÁ ` &Á] 'Á Z •Á W -Á T -
® □ □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□-
Â ôÂ x öÂ u SÃ r UÃ o ²Ã l 'Ã i □Ã f □Ã c pÃ ` rÃ] iÃ z ÑÃ
W .Ã T -
® □ □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□.Ã 0Ã x •Ã u 'Ã r ¶Ã m
èÃ j íÃ e îÃ ` öÃ] ÷Ã Z =E W ĀÇ T İÇ O .Ã T -
□ □□□□ □□ □□ □□ □□ □□□□ □□□□ □□ □□□□ □□6□□ □

ĩÇ òÈ x AÈ u CÈ r •È o fÈ l ÁÈ i ÑÈ f òÉ c òÉ ` AÉ] CÉ z •É
W fÉ T -
□ □□□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□fÉ ÁÉ x ÑÉ u ÖÉ r ëÉ o
FÈ l OÈ g fÈ d :ì a <ì ^ zì [|ì X °ì U ¼ì R -
□ □ □□6□ □□6□ □□6□ □ □□□ □ □ □ □□6□¼ì úì x ùì u :í r <í o
zÍ l |Í i •Í f £Í c Eİ ` Rİ [•İ X çİ U Áİ R -
□ □ □□6□ □ □□□ □ □ □ □□6□ □□6□ □□6□Áİ ýİ x ð u ?ð r Að o
•ð l •ð i çð f Áð c ýð ` Ñ] ?Ñ Z AÑ W ZÑ T -
□ □ □ □ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ZÑ oÑ x \$Ò u µÒ p çÒ m
%Ó j 'Ó g eÓ d gÓ a ¥Ó ^ \$Ó [ãÓ X çÓ U %Ò R -
□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □ □□□ □ □□%Ò 'Ò x eÒ u gÒ r ¥Ò o
\$Ò l ¼Ò i òÒ f KÒ c WÒ ^ ...Ò [ÅÒ X ÇÒ U □Ò R -
□ □□6□ □□6□ □ □□□ □ □ □ □□6□ □□6□ □□□ □Ò x EÒ u GÒ r ...Ò o
#Ò l ÅÒ i ÇÒ f □× c □× ` E×] G× Z Z× W |× T -
□ □□6□ □ □ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □□|× E× x £× u ÀØ r ÂØ m
ÐØ h òÙ e FÙ b HÙ _ †Ù \ ^Ù Y ÆÙ V ÈÙ S □Ú P -
□□6□ □□6□ □□6□ □□6□ □ □□□ □□□ □ □ □ □□Ú □Ú x FÚ u HÚ r †Ú o
^Ú l ÆÚ i ÈÚ f ØÚ c èÚ ` ùÙ]

Ü X FÜ U „Ü R -

□□6□6□□ □□ □□□□ □□ □□ □□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□„Ü †Ü x ÄÜ u ÆÜ r □Ý o
 □Ý l DÝ i FÝ f „Ý c †Ý ` ÄÝ] ÆÝ Z □Ð W □Ð T -
 □□6□6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□□Ð □Ð x ÐÐ u óÐ r □ß m
 kß j ¥ß g \$ß d åß a çß ^ %à ['à X eà U gà R -
 □□6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□ □□□□ □□ □□ □□gà ¥à x \$à u åà r çà o
 %á l 'á i eá f gá c qá ` •á] Öá Z çá W =ã T -
 □□6□ □ □□ □□ □□ □□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□=ã Jã v ...ã s ãã p Åã m
 ä j ä g Cä d Eä a fä ^ ...ä [Ää X Ää U Kå R -
 □□6□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□ □□□□Kå Må x <å u •å r ¶å o
 æ l æ i læ f 3æ c Ææ ` ãæ] åæ Z #ç W %ç T -
 □□6□6□ □□6□□ □□6□□ □□ □□ □□ □□ □□ □□6□□ □□%ç cç x eç u fç r ¥ç o
 ãç l åç i #è f %è c cè ` eè] èè Z ¥è W ãè T -
 □□6□6□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ãè àè x 'é u)é r gé o
 ié l \$é i ©é f çé c éé ` 'ê])ê Z gê W iê T -
 □□6□6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□iè \$è x ©è u çè r éè o
 'è l)è i gè f iè c \$è ` ©è] çè Z éè W 'ì T -
 □□6□6□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□'ì)ì x gì u iì r ©ì o
 «ì l éì i ëì f)í c +í ` jí] „í Z èí W éí T -
 □□6□6□6□□ □□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□éí éí x \$î u &î r _î o
 âî l šî i œî f Őî c xî ` ñî] ñî Z Kî W Mî T -
 □□6□6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□Mî †î x ^î u Áî r Æî o
 üî l þî i 7ð f 9ð c rð ` tð] -ð Z ¯ð W èð T -
 □□6□6□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□èð êð x #ñ u %ñ r ^ñ o
 `ñ l ™ñ i >ñ f Ôñ c Öñ ` ò] ò Z Jò W Lò T -
 □□6□6□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□Lò ...ò x †ò u Àò r Âò o
 ûò l ýò i 6ó f 8ó c qó ` àó] âó X Iø U fø R -
 □□6□ □□ □□ □□e□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□fø ou x çù u Gp r bp o
 •ÿ l æÿ i ÷ÿ f

□ ` É □] ℘ □ X ∅□□ U

□□ P -□□ □□□□ □□ □□□□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□ □□

□□ □□□ x !□□ s ¼□□ p G□□ m H□□ j S□□ g U□□ d [□□ a n□□ ^ š□□ [;□□ X È□□
U Ě□□ R -□□ □6□□ □6□□ □6□□ □6□□ □6□□ □□ □□ □□□□ □□Ě□□
□□ x □□□ u ;□□ r N□□ o z□□ l †□□ i «□□ f ¾□□ c ê□□ ` ö□□] □□□ Z .□□ W Z□
□ T -
□□ □6□ □6□□ □6□□ □6□□ □6□□ □6□□ □6□□ □□Z□□ f□□ x <□□ u ž□□ r Ê□□ o
Ö□□ l û□□ i

□□ f

□□ c □□□ ` #□□ ŷŷ2□□] 4□□ z □

□ ýý□

□ U □□ □□□ □□ □□ □□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□

e C ŷ ŷ` x b s δ ŷ ŷ n , ŷ ŷÊ i } ŷ ŷ< d * ŷ ŷE a G
 \ " z • U 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

• 0 0 y ¼ 0 0 t Ě 0 0 r à 0 0 m "- 0 k -- 0 f 0 0 d 0 0 _ 0 0] (0 X Š 0 V Ž 0 Q > -
0 O • 0 > 0 « 0 v 0 0 t 0 0 o 0
0 ýÿ0 0 l 2 0 g ? 0 e T 0 ` ! 0 ^ ! ! 0 Y -
! 0 W ™ ! 0 R ! ! 0 P • 0 ! ! 0 , ! 0 v
Ě " 0 t í " 0 o ě " 0 m â " 0 h X # 0 f o # 0 c t # 0 a > # 0 \ l ' 0 z ~ ' 0 U -
(0 S / (0 N 0 / (0 É (0 y Ê (0 t
Ñ (0 r Ò (0 m Ø (0 k Ú (0 f ï (0 ýÿý (0 a ø) 0 ýÿ * 0 ^ 0 * 0 ýÿ) * 0 [g - 0 ýÿ } -
0 X 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

}-□ Ô-

□ x □.□ u □.□ r O.□ o Q.□ l •.□ i \.□ f ĩ.□ c Ñ.□ ` □/□ j □/□ z O/□ w Q/□ T }-

□ X □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□Q/□ •/□ x \/□ u ĩ/□ r Ñ/□ o □ 0□ l □0□ i □0□ f Q0□ c •0□ ` \0□ j ĩ0□ z Ñ0□ w □1□ T }-

□ X □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□□1□ □1□ x O1□ u Q1□ r •1□ o ` 1□ l ĩ1□ i Ñ1□ f □2□ c □2□ ` O2□ j Q2□ z •2□ w `2□ T }-

□ X □ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□`2□ ĩ2□ x Ñ2□ u □3□ r □3□ o O 3□ l Q3□ i •3□ f `3□ c ĩ3□ ` Ñ3□ j □4□ z □4□ w O4□ T }-

□ X □6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□ □□6□□O4□ ;4□ x Ý4□ u ß4□ r

kA éA x ëA u)B r +B o iB l kB i ©B f «B c éB ` ëB])C Z +C
W iC T kA V □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□iC kC x ©C u «C
□ r éC o ëC l)D i +D f iD c kD ` ©D] «D Z éD W ëD T kA V □ □
□6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□)E x +E u iE r kE o ©E l «E
□ i éE f ëE c)F ` +F])G Z +G W iG T kA V □6□ □6□ □6□ □6□
□ □6□ □6□ □6□iG kG x ©G u «G r éG o ëG l)H i +H f iH c kH
□ ` ©H] «H Z éH W ëH T kA V □ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □
□ëH éI x ëI u)J r +J o iJ l kJ i ©J f «J c éJ ` ëJ])K Z +K
□ W iK T kA V □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□iK kK x ©K u «
K r ¶K ŷÿÈK m ĨK h "L e `L b bL _ L \ çL Y àL V âL S kA V □ □
□6□ □6□ □6□ □ □□□ □□□ □6□ □âL
M x "M u `M r bM o M l çM i àM f âM c
N ` "N] `N Z bN W N T kA V□6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6
□□ N çN x àN u ân r O o "O l `O i bO f O c çO ` àO] âO Z
P W "P T kA V□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □"P `P x bP u
P r çP o àP l âP i
Q f "Q c `Q ` bQ] Q Z çQ W àQ T kA V□6□ □6□ □6□ □6□ □6
□□ □6□ □6□àQ âQ x
R u "R r `R o bR l «R i 6S f =S a eS ^ zS [|S X µS U ·S R kA
□ □ □6□ □6□ □□ □□□ □6□ □6□ □6□ □□·S hT x jT u fT r ¶T o Þ
T l àT i □U f □U c TU ` VU] •U Z `U W ÊU T kA □ □6□ □6□ □6
□□ □6□ □6□ □6□ □6□ÊU ÌU x □V u □V r @V o BV l {V i }V f ¶
V c ,V ` ñV] óV Z ,W W .W T kA □ □ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□
□6□ □□.W gW x iW u çW r ¶W o ÝW l ßW i □X f □X c SX ` UX] Ž
X Z •X W ÉX T kA □ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ □6□ÉX ÈX x
âX u äX r úX p þX ŷÿY m
Z ŷÿ%Z j ZZ g \Z d šZ a œZ ^ ÚZ [ŪZ X □6□□ □6□ □6□ □6□6□
□□7□ □6□ □

ÛZ[] [][[] x [] [] u Z[] r \[] o š[] l œ[] i Ú[] f Ü[] c []\[] ` []\[]] z\[] z \[]
W š\[] T ÛZ[] X []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]š\[] œ\[] x Ú\[] u Ü\
[] r []] [] o []] [] l Z] [] i \] [] f š] [] c œ] [] ` Ú] []] Ü] [] Z []^[] W []^[] T ÛZ[] X [] []
[]6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[] []6[]^[] Z^[] x \^[] u š^[] r œ^[] o Ú^[] l Ü^
[] i []_[] f []_[] c Z_[] ` _[]] š_[] Z œ_[] W Ú_[] T ÛZ[] X []6[] []6[] []6[] []6[]
[] []6[] []6[] []6[]Ú_[] Ü_[] x ì_[] ýÿ_[] ` t Ūa[] ýÿ[]b[] q ðb[] ýÿëb[] n zd[] ýÿçd
[] k ;f[] ýÿÉf[] h òg[] ýÿ[]h[] e *j[] ýÿ9j[] b ™k[] ýÿ[]6[] [] [] [] [] [] [] a\$[] []
[]™k[] šk[] x ðk[] u]n[] ýÿkn[] r àq[] ýÿ

ĩ i Tĩ ŷŷYĩ f wĩ d ĩ a q qq q qq qq qq qq qq ĩ HĐ ŷŷnĐ x
ĐĐ ŷŷ'Ñ u ŽÑ ŷŷ Ñ r •ò ŷŷzò o]ó ŷŷsó l Āó ŷŷéó i MŌ ŷŷ`ô f \$
ô ŷŷ°ô c q q qq qq qq qq qq qq °ô £ô ŷŷăô x "ô v ôô s ©x ŷŷ
¿x p #ø ŷŷ7ø m @ø ŷŷĂø j _ù ŷŷcù g dù ŷŷzù c |ù ŷŷ~ù ` q qq a
q qq qq qq qq q qq~ù •ù ŷŷ-
ù x -ù ŷŷ±ù u Âù ŷŷÆù r ôù ŷŷÛù o èù ŷŷíù l ýù ŷŷ□ù i □ù ŷŷ□ù
q f &ù ŷŷ+ù c q qq qq qq qq qq qq qq qq □+ù Kù ŷŷNù x aù ŷŷeù u w
ù ŷŷ{ù r •ù ŷŷ"ù o №ù ŷŷ"ù l ĩù ŷŷôù i □ù ŷŷ
ù f <ù ŷŷ?ù c q qq qq qq qq qq qq qq qq □?ù iù ŷŷnù x •ù ŷŷ"ù u
,ù ŷŷ»ù r Èù ŷŷÉù o Ûù ŷŷÛù l éù ŷŷôù i □ù ŷŷ□ù f @ù ŷŷFù c q
qq qq qq qq qq qq qq qq □Fù cù ŷŷeù x èù ŷŷ³ý t \p q •p ŷŷÈù ŷŷ
Éù o Ûù ŷŷÛù l éù ŷŷôù i □ù ŷŷ□ù f @ù ŷŷFù c q qq qq qq qq qq q
qq □\$ □€ • n ' a # a % a ã a å a 3 a 5 a □ÖFà □ÖFà
□ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà□

<□-

à□

<- à5 ä n æ n R n æ n è n » n Ø n ý n 4 n □
ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFàà

<□- à□ 4□ ï□ n

□ n -

□ n E□ n Y□ n i□ n z□ n Š□ n >□ n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□à□

<□- à□ >□ 8 n M n] n m n y n Š n ¥ n , n Ê
n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□à□

<□- à□ Ê j

n l

n n

n p

a r

a t

a v

a x

a □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□-

à□

<□- à□□x

z

n |

n ~

n €

a ,

a "

a †

a ^

a □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□-

à□

<□- à□□^

š

n €

n ž

n •

n ' /

a "

a -

a ~

a □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□-

à□

<□- à□□~

š

n œ

n ž

n

n ç

n ɻ

n |

n ..

n a

n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□à□

<□- à□ a

┘

n ®

n Æ

Z Æ

Z Ñ

Z Ó

M □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□- à□□<□- à□ -

<□- à□□ó

Ö

n x

n Û

n Û

n Ý

n ß

n á

a □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ à□□<□-

<□-

à□

<□- à□□á

n ã

n ã

n Ç

n è

n ë

n í

n □

n ı

n à

n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□à□

<□-
4

à□

à

n -□ n F□ n ò□ n ô□ n

n •

n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□à□

<□-

à□

•

n □□ ` □□ ` □□ ` 1□ ` ,□ ` ´□ ` □□ ` □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□<□- à□đ

<□- à□□<□- à□đ□"> i> m f> m Ç> m â> m @? m ^? m x? m
z? j □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð

<□- □<□□<□- à□đ□z? |? x ~? x €? x À? x ù? x û? x ;@ x
{@ x »@ x û@ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð
□ÖFð □<□
û@ ;A x {A x »A x ûA x ;B x {B x »B x ûB x ;C x {C x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
{C »C x ûC x ;D x {D x »D x ûD x ;E x {E x }E x -
E x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
-
E ™E x ´E x ÅE x ãE x åE x çE x éE x èE x íE x ïE x □ÖFð □ÖF
ð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ïE ñE x óE x õE x ÷E x ùE x ûE x ýE x ÿE x □F x □F x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
□F □F x □F x F x
F x □F x <F x •F x °F x ÁF x ýF x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ýF 9G x uG x †G x íG x)H x eH x ;H x ÝH x □I x UI x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
UI `I x ÍI x
J x EJ x •J x ½J x ùJ x 5K x qK x -K x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
-K éK x %L x aL x •L x ÙL x □M x QM x •M x ÉM x □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ÉM ĚM n ÍM n "N n >N n _N n fN n žN ` N ` □ÖFa□ □ÖFa□ □Ö
Fa□ □ÖFa□ □ÖFa□ □ÖFa□ □ÖFa□□<□- à□đ

<□- à□□ N ñN m □P m 8Q m iQ m %Q m ³Q m ÓQ m @R m VR m □
 ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□□<□- à□đ
 VR R m aR m cR m "R m ÛR m @S m ìS m 5T m ÒT m □ÖFà□ □Ö
 Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□□<□- à□đ
 ÒT yU m ¼U m dV m ^aV m ¼V m ÑV m çV m □W m :W m □ÖFà□ □Ö
 Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□□<□- à□đ
 :W ÷W m :X m LX m aX m rX m šX m «Y m ãY m ÈZ m □ÖFà□ □Ö
 Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□□<□- à□đ
 ÈZ B[m L\ m '] m Z^ m Ô^ m ½ m t` m •` m |` m □ÖFà□ □Ö
 Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□□<□- à□đ
 |` ¼` m 6a m òa m ÷b m úb ` ùb ` þb ` □c ` □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
 Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□- à□□<□- à□đ□□c □c n tc n wc n 'c n "c n óc n ðc n
□d n □d n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□

<□- à□ □d id n ld n £d n Ñd n Åd n
f n "f n ^af n -f n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□□□

<□- à□
-f @f n ±f n ³f n xg n Šh n ¨i n ^ai n Mj n Oj n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□

<□- à□
Oj rj n tj n ik n kk n mk n -k n Àk n ëk n □l n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□

<□- à□ □l ^al n -l n Qm n Sm n €m n -
m n °m n Öm n Øm n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□□□

<- à
Øm îm n ðm n Un n ,n n 0o n Žo n Ěo n [p n μp n Æà Æ
Fà Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà

<□- à□
µp òp n -q n •q n Ñq n ;r n @r k wr h Ír h □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □□<□□<□

<□- à□□ír ĩr x

s x Is x ts x
t x Gt x „t x Át x pt x ;u x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
;u xu x µu x òu x /v x lv x ©v x æv x #w x `w x •w x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
•w Úw x □x x Tx x mx k †x k Ýx k çx ^ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖF

<□-

à□

< - à<çx z n z n ðz n òz n Ô{ n Ö{ n ê{ n ì{ n œ| n
Öà Öà Öà Öà Öà Öà Öà Öà Öà Öà<

< à æ| } n -} n
} n " } n \$ } n » } n %~ n <~ n ¥~ n Æ Æ Æ Æ Æ Æ Æ Æ
Æ Æ Æ Æ Æ Æ <

<□- à□
¥~ \$~ n ·· n I€ n o• n q• n s• n u• n w• n ç• n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<

<□- à□
ç• ê, n ®f n °f n ³f n µf n ·f n ¹f n »f n ¼f n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<

<□- à□
Fà□ □ÖF□<□- ½f çf n Áf n Ñf n Äf Z Öf F □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
à□ #□<□- à□ #

<□- à□□Öf øf g Úf g Üf g „ S □„ ? □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□ □Ö□<□- à□ #□<□- à□ #□<□- à□ #□□„ □
„ n □„ n □„ n
„ n

“ n

„ n □ „ n □ „ n □ „ n □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □
ÖFà □

<□- à□
□" □" n □" n □" n □" n 5" n 7" n 0" n Q" n □... n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<- à
 ‡ ‡ n Ô ‡ n ï ‡ n ^ n ^ n l ^ n P ^ n k ^ n † ^ n Fà Ö
Fà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà

<- à
† n ¥ n § n © n « n - n - n ± n ³ n Fà Ö
Fà Fà Fà Fà Fà Fà Fà Fà Fà

<□- à□
³ ^ μ ^ n · ^ n ¹ ^ n » ^ n ½ ^ n ¿ ^ n Á ^ n Ñ ^ n Å ^ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<- à
Å Ç ñ É ñ Ě ñ Í ñ Ĩ ñ Ñ ñ % a F% a ÒFà ÒFà Ò
Fà ÒFà ÒFà ÒFà ÒFà ÒFà

<□-

à□

<□- à□□F% H% n J% n ^% k Æ% k □Š k BŠ k €Š k ¼Š k □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð

<□-

□<□

<□- à□□¾Š üŠ x :< x x< x ¶< x ô< x 2E x pE x @E x ìE x *•
x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
*• h• x |• x ä• x "Ž x `Ž x žž x ůŽ x □• x X• x -
• x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
-• Ô• x □• x P• x Ž• x Ì• x
' x H' x †' x Ä' x □' x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
□' @' x ~' x ¼' x ú' x 8" x v" x ´" x ¶" k □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□¶" , " n °" n ¼" n ç" n □" n 0" n o" n □" n ~" n
□ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
 ~" Õ" n í" n !• n 4• n I• n k• n |• n ℰ• n >• n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□ >• Á• n Ó• n æ• n ð• n □- n □- n □- n □- n <-
n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

< - à - û -
n Æ~ n È~ n E™ n d™ n f™ n <™ n Ž™ n ɔ™ n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
n □š n 8š n Qš n eš n vš n □š n Âš n íš n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
íš □> n t> n v> n Š> n Œ> n 6œ n œ n úœ n R• n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□ R• š• n □ž n :ž n <ž n □ž n Āž n ôž n
Ÿ n JŸ n □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□ □ŒFà□<□

<□- à□ JŸ žŸ n ÒŸ n

n (n E n a n ~ n œ n ^{3/4} n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
 ¾ Ô n Ö n ë n - ; n Ü ; n ß ; n ¥ ¢ n § ¢ n f £ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
fℓ hℓ n jℓ n lℓ n nℓ n ℓℓ n Åℓ n Çℓ n Ýℓ n ßℓ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
β£ □¤ n J¤ n ¯¤ n %¤ n <¤ n ¤ n ϕ¤ n ,¥ n □! n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
□! □! n E! n G! n }! n œ! n ž! n | n ç! n ɣ! n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
□ | □ | □ n Ó | □ n □\$ n T\$ n V\$ n n\$ n p\$ n ž\$ n ³\$ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
³§ Æ§ n å§ n û§ n □'' n &'' n ('' n >'' n é'' n ×© n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
 ×© □^a n □^a n a^a n c^a n e^a n g^a n "a n ò^a n p^a n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
p^a « n □« n □« n ?« n |« n "« n Ò« n Ô« n é« n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□ é« ë« n {¬ n □- n ã- n "® n)® n +® n -
® n /® n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
/Ⓢ 1Ⓢ n PⓈ n RⓈ n ŠⓈ n »Ⓢ n ¼Ⓢ n 0⁻ n 2⁻ n 4⁻ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
4̄ x |̄ x "̄ x ç̄ x &° x e° x π° x ã° x "± x a± x □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
a± ± x ß± x -² x]² x œ² x û² x □³ x Y³ x ~³ x ×³ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
×³ □' x U' x "' x Ó' x □μ x Qμ x Sμ v †μ v %μ v □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð<□<□
%μ Ñμ y Åμ l Çμ l Éμ l Ęμ l Íμ l N¶ i P¶ i □ÖFð □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö□<□

<□- à□□<□P¶ •¶ x Ě¶ x □· x E· x ,· x ħ· x ù· x 9, x v, x
³, x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
³, ð, x -
¹ x j¹ x §¹ x ä¹ x !° x ^° x >° x Ø° x □» x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
□» R» x •» x ´» u Þ» u à» h G¼ h `¼ e ô¼ e □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð□<□

<□- à□□<□□<□□ô¼ S½ x ²½ x □¾ x p¾ x İ¾ x .¿ x •¿ x ì¿ x KÀ
x aÀ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
aÀ Á x hÁ x ÇÁ x -
Â x öÂ x UÃ x 'Ã x □Ä x rÄ x ÑÄ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ÑÄ 0Å x •Å x ¶Å v íÅ v öÅ i □Æ i □Æ i =Æ i □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □Ö

<□- à□□<□<□□=Æ ?Æ n ½Æ n VÇ n ÁÇ n ÑÇ n ýÇ n ÿÇ k □È k □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö

<□<□

<□<□

<□- □<□□ÃÉ ÇÉ n íÉ n ïÉ n OÊ n \Ê n •Ê n ÊÊ n îÊ n îÊ n □
ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
îÊ DË n FË n •Ë n •Ë k fË k <Ï k |Ï k ¼Ï k □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□□¼î ùî x <í x |í x ~í k £í k µí k \$î k zî k □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà

<□- à□□<□□Zî Cï n Eï n }ï a •ï ^ •ï ^ Áï ^ □Đ ^ □ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖF□<□

<□-

à□

<□- à□□□Đ AĐ x •Đ x ÁĐ x □Ñ x AÑ x CÑ k EÑ k GÑ k □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□

<□-

<□- à□□<□□GÑ IÑ n KÑ n qÑ n TÒ n VÒ n SÒ n ãÒ a □ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□

<□-

à□

<□- à□□ãò åò x çò x 'ó x gó x šó x çó x 'ô x gô x šô x □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð à□

<□- □<□
§ô ©ô x «ô x -ô x òô x ôô x Iô k Kô k □öfð □öfð □öfð □ö
Fð □öfð □öfà□ □öfà□ □öfð □öfð □öfð □öfð

<□- à□□<□□KÕ ...Õ n †Õ k ÇÕ k □Õ k GÕ k †Õ k ÇÕ k □× k □ÖFà
□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð□<□

<□- à□□□× G× x I× k K× k M× k O× k Q× k ~× k ¥× k □ÖFð □
ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□¥× §× n g∅ n À∅ n Â∅ n □Ù a □Ù ^ HÙ ^ □ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖF□<□

<□-

à□

<□-

<□- à□□<□□íÚ iÚ n «Û n úÛ n ùÛ n þÛ a Û a □Û a □Û a □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□

<□-

à□

<□- à□□□Ü DÛ n FÛ n †Ü k ÆÜ k □Ý k FÝ k †Ý k ÆÝ k □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □

<□-

□<□

<- àÆÝ x k D k ^a k ó k pß ^ §ß ^ ÖFð ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFð ÖF

<□-

à□

<□- à□□<□□•á Çá n Éá n éá n xâ n ;ã n =ã n fã a □ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFà□□

<□-

à□

<□- à□□fã ...ã x Åã x □ä x Eä x ...ä x Åä x Må x •å x □ÖFð □
ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □

<□-

à□

<□- □<□□•ǎ •ǎ n `ǎ n `ǎ n •ǎ n -
ǎ n ™ǎ n >ǎ n •ǎ n Ÿǎ n □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □Ǟǎ□ □
Ǟǎ□ □Ǟǎ□à□

<□- à□
Yâ jâ n fâ n ¥â n Šâ n ©â n «â n -â n ¯â n ±â n □ÖFâ□ □Ö
Fâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□ □ÖFâ□à□

<□- à□ ±â ³â n μâ n êâ n

<□-

à□

<□- à□□Ãæ åæ x %ç x eç x ¥ç x âç x %è x eè x ¥è x âè x)é
x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
)é ié x ©é x éé x)ê x iê x ©ê x éê x)ë x ië x ©ë x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
©ë éë x)ì x iì x «ì x èì x +í x ví k x í k □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□xí zí n |í n ~í n €í n ,í n „í n èí a ëí a □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□-

à□

<□- à□□ëí &î y aî y œî y ×î y □i y Mî y ^i y Ñi y þi y 9ð
y □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
9ð tð y ¯ð y êð y %ñ y `ñ y >ñ y Öñ y □ò y Lò y †ò y □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
‡ò Ñò y ýò y 8ó y só y !ó l áó l äó _ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□-

à□

< - à< äó æó n êô n õ n Éö n Eö n
÷ n >÷ n ð÷ n Æ÷ n Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà Æà
Æà

<□- à□ Æ÷ @ø n Cø n fø n <ø n ?ù n ¹ù n Ũú n

û n •û n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□- à□
•û çû n ßû n kü n mü n ,ü n „ü n çü n ,ý n Ep n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<- à
Ep Gp n bp n •ÿ n fÿ a ...ÿ T †ÿ T %ÿ T Æà Æà Æà Æ
Fà Æà Æà Æà

<□-

à□

<□-

à□

<□- à□□%ÿ <ÿ n Áÿ n æÿ n

□ n ° □ n ¼ □ n Ð □ n ê □ n ï □ n □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □
ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ à □

<□-

à□

i□□

□□ n □□□ n □□□ n 7□□ n ½□□ n ċ□□ k Á□□ k Ñ□□ k □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□□Ã□□ Å□□ x Ç□□ x É□□ x È□□ x Í□□ x Đ□□ x Ò□□ x □□□ x □□□ x "□
□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð
"□□ \$□□ x i□□ x ©□□ x ó□□ x 8□□ x p□□ x "□□ x à□□ x □□□ x P□□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð
P□□ ^□□ x À□□ x ø□□ x 0□□ x h□□ x □□ x Ø□□ x □□□ x □□□ x □□□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð
□□□ M□□ x O□□ x €□□ x ,□□ x Ä□□ x □ □ x D □ x „ □ x Ä □ x □
□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð
□
□ D
□ x „
□ x Ä
□ x □
□ x D
□ x „
□ x Ä
□ x □

□ x D

□ x "

□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
"

□ x □□□ x □□□ k □□□ k
□□ k

□□ k □□□ k □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□□□□ 4□□ n X□□ n Z□□ k †□□ k -
□□ k ¿□□ k Á□□ k ô□□ k □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □ÖFð□<□

<- àô ö x ø x

□ k 8□□ k Æ□□ k Å□□ k ä□□ k k□□ k □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□k□□ m□□ n Š□□ n Œ□□ k Æ□□ k È□□ k □□□ k □□□ k G□□ k □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð□<□

<- àG I x X x Z x \ x ^ k a k d k • k ÖF ÖF ÖF ÖFà ÖFà ÖF ÖF

<□- à□□<□□•□□ `□□ n Ä□□ n Ó□□ n ð□□ n «□□ n □□□ n l□□ n n□□ n •□□ n
□ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□
•□□ <□□ n H□□ n J□□ n g□□ n ¥□□ n Y□□ n [□□ n]□□ n `□□ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ <□

< - à ` p n r n Š n Œ n Å n ô n -
n W n ' n ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà<

<□- à□
 '□□ "□□ n ¶□□ n :□□ n <□□ n [□□ n É□□ n □□□ n F□□ n H□□ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<- à
H e n 0 n 3 n 6 n b n ... n â n ç n n Ò Ò
Fà Ò Ò Ò Ò Ò<

<□- à□
□□□ €□□ n °□□ n D□□ n ©□□ n «□□ n Ê□□ n n□□ n p□□ n •□□ n □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<-

à

- n n n n G n p n • n $\frac{1}{4}$ n $\frac{3}{4}$ n à n ÖFà
ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà<

<□- à□ à□□ â□□ n --□ n □□ n □ n (□ n €□ n Ž□ n «□ n □
□ n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□ □ □
□ m 2 □ m T
□ m !!□ m ™!□ m ,!□ m Í"□ m ã"□ m K#□ m □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□<□- à□ð
K#□ M#□ m O#□ m R#□ m q#□ m >#□ m □\$□ m □%□ m y%□ m Ñ&□ m □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□<□<□- à□ð
Ñ&□ g'□ m ~'□ m ñ'□ m / (□ m Ú (□ m ý (□ m ú)□ ` ü)□ ` □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□- à□□<□- à□ð□ü)□ p)□ n *□ n □*□ n □*□ n
*□ n ' *□ n) *□ n -
+□ n < +□ n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□□□

<□- à□ <+□ Ç+□ n 7,□ n ß,□ n g-□ n i-□ a k-□ a m-□ a o-
□ a □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□

<□-

à□

< à o- q- n s- n u- n w- n y- n { - n } - n ô-
 n òFà òFà òFà òFà òFà òFà òFà òFà

<□-

à□

<□- à□□ô-
□ □.□ x Q.□ x `□ x Ñ.□ x □/□ x Q/□ x `/□ x Ñ/□ x □0□ x Q0□ x □ÖFð □ÖFð
□ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
Q0□ `0□ x Ñ0□ x □1□ x Q1□ x `1□ x Ñ1□ x □2□ x Q2□ x `2□ x Ñ2□ x □ÖFð □ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
Ñ2□ □3□ x Q3□ x `3□ x Ñ3□ x □4□ x Q4□ x S4□ k Š4□ k □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□-

à□□<□□Š4□ ß4□ n

5 k =5 k 15 k >5 k Í5 k ù5 k +6 k ☐ÖFà☐ ☐ÖFð ☐ÖFð ☐ÖFð ☐ÖFð ☐
ÖFð ☐ÖFð ☐ÖFð ☐ÖFð ☐ÖFð☐<☐

<□- à□□+6□ Z6□ x %6□ x ,6□ x ç6□ x □7□ x H7□ x z7□ x «7□ x Ú7□ x □8
□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
□8□ =8□ x p8□ x ç8□ x å8□ x ç8□ k a9□ k -
9□ k í9□ k □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□í9□ ù9□ n !:□ n #:□ n C:□ n E:□ n %;□ n U<□ n ²<□ n Û<□ n
□ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà<□

<□- à □ Û<□ :=□ n •=□ n μ=□ n β=□ n □>□ n -
>□ n V>□ n ,>□ n ->□ n □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□<□

<□-

à□

->□

? n ě? n ž@ n •@ a ' @ a " @ a -
@ a ~@ a □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà □ÖFà

<□-

à□

<- à~ š n œ n ž n @ n ç n x n ; n ` n ^ n
ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFàà

<□- à□
 ^a@□ -@□ n ê@□ n A□ n kA□ k «A□ k ëA□ k +B□ k kB□ k □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□<□

<□- à□□kB□ «B□ x ëB□ x +C□ x kC□ x «C□ x ëC□ x +D□ x kD□ x «D□ x ëD
□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ëD□ +E□ x kE□ x «E□ x ëE□ x +F□ x kF□ x «F□ x ëF□ x +G□ x kG□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
kG□ «G□ x ëG□ x +H□ x kH□ x «H□ x ëH□ x +I□ x kI□ x «I□ x ëI□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
ëI□ +J□ x kJ□ x «J□ x ëJ□ x +K□ x kK□ x «K□ x ¶K□ k □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð

<□- à□□<□□□K□ ,K□ x °K□ x ¼K□ x ¾K□ x ÀK□ x ÂK□ x ĀK□ x ÆK□ x ÈK□ x
L□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
L□ "L□ x bL□ x çL□ x âL□ x "M□ x bM□ x çM□ x âM□ x "N□ x bN□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
bN□ çN□ x âN□ x "O□ x bO□ x çO□ x âO□ x "P□ x bP□ x çP□ x âP□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
âP□ "Q□ x bQ□ x çQ□ x âQ□ x "R□ x bR□ x -R□ x êR□ u ýR□ u □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö□<□□<□
ýR□ 6S□ x |S□ k ·S□ h òS□ h -
T□ h jT□ h ¥T□ h àT□ h □ÖFð □ÖFà□ □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □
ÖFð □□<□

<□- à□□<□□àT□ □U□ x VU□ x `U□ x ÌU□ x □V□ x BV□ x }V□ x ,V□ x óV□ x
.W□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
.W□ iW□ x ¢W□ x ßW□ x □X□ x UX□ x •X□ x ĚX□ x äX□ x üX□ u □ÖFð □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □Ö□<□□<□
üX□ þX□ x □Y□ k -Y□ k ~Y□ k ñY□ k

<□- à□□<□□\Z□ œZ□ x ÜZ□ x □[□ x \[□ x œ[□ x Ü[□ x □\□ x \□ x œ\□ x
Ü\□ x □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
Ü\□ □]□ x \]□ x œ]□ x Û]□ x □^□ x \^□ x œ^□ x Ü^□ x □_□ x _□ x □ÖFð □Ö
Fð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □ÖFð □<□
□ œ□ x Ü_□ x Æ_□ k à_□ k â_□ [ä_□ [æ_□ [□ÖFð □ÖFð □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö
Fà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □<□- à□ð ð

<□- à□□<□□æ_□ è_□ k ê_□ k ì_□ k î_□ [ð_□ [ò_□ [ô_□ [□ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFð □<□- à□ð ð□<□- à□ð ð□ô_
□ □`□ g □`□ W Ūa□ W □b□ W lb□ W Āb□ W ëb□ W □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà
□ □ÖFà□ □ÖFà□ □Ö□<□- à□ð ð□<□- à□ð ð #□ëb□ ud□ k wd□ k rd□
k rf□ k Ēf□ k íg□ k □h□ k ¼i□ k □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□
ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ à□ð ð□<□-□<□- à□ð ð□¼i□ &j□ k ;
j□ k ™k□ k ¦k□ [|m□ [~m□ [Xn□ [□ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □ÖFà□ □
ÖFà□ □ÖFà□ □< - à□ð ð□<□- à□ð ð□Xn□ bp□ k ×q□ [Ûq□ [Ūq□ [Ý
q□ [

š k < > k ſœ k Ôœ k †• k 'Ÿ k ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà
ÖFà ÖFà àð ð<- àð ð'Ÿ ½ k ,ç k Bç k Dç k Fç k H
ç k Jç k Lç k ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà à
ð ð<- àð ðLç Nç k Pç k Rç k Tç k Vç k Xç k Zç k \ç k
ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà àð ð<- àð
ð\ç ^ç k `ç k bç k dç k fç k ...ç W ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà
ÖFà ÖFà ÖFà ÖFà<- àð ð #<- àð ð...ç ,£ k Ðç k
ç k ç k l© k ^aç k #ç k rç k ÖFà

ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □
ÖFà □ ÖFà □ àð ð #<□- àð ðr-□ i-□ k ñ-□ k Û-□ k @□ k □
-□ k °□ k q°□ k s°□ k ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □ ÖFà □
àð ð #<□- àð ðs°□ u°□ k w°□ i y°□ i {°□ i }°□ i •°□ i •°□ i f
°□ i ÖFà □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð □ ÖFð àð ð <□<□-
àð ð ðf°□ ...°□ y ‡°□ y %°□ y <°□ y •°□ y •°□ y `°□ y ©°□ l «°□ l ÖFð
ÖFð ÖFð ÖFð ÖFð ÖFð ÖFð ÖFh □ ÖFh □

<□- h□□<
«°□ -°□ n °□ n ±°□ n ³°□ n μ°□ n ·°□ n ¹°□ n »°□ n ½°□ n □ÖFh□ □Ö
Fh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□

<- h
½ ç n Á ã Ä Ö Z × M ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh

<□-

h□□<□-

h□

#

<- h x ° ± n O ± n l ± n ç ± n æ ± n ú ± n 9² n t² n ...² n
ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
...² 3/4² n Á² n Ø² n □³ n ' ³ n z³ n]³ n z³ n ¬³ n □ÖFh □Ö
Fh □ÖFh □ÖFh □ÖFh □ÖFh □ÖFh □ÖFh □ÖFh □ÖFh #

<□- h□
-³□ ä³□ n ç³□ n ÷³□ n 8'□ n Y'□ n ~'□ n ɶ'□ n S'□ n Í'□ n □ÖFh□ □Ö
Fh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ #

<□-

h□

í'□

<- h
O R n • n n Ó n ì n ì n & n F n † n Öh Ö
Fh Öh Öh Öh Öh Öh Öh Öh #

<- h
† · ` · n ç · n Â · n Ð · n , · n * · n , · n ? · n · · n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
•, ¼, n ð, n ¹ n ⁻¹ n :¹ n |¹ n ¶¹ n Ô¹ n þ¹ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<□- h□ p¹□ □°□ n U°□ n -
°□ n í°□ n ÿ°□ n □»□ n □»□ n V»□ n •»□ n □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □
ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ □ÖFh□ #

<- h
•» ç» n Ç» n Ê» n Ë» n ý» n #¼ n %¼ n ^¼ n ,¼ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h , ¼ Ä n ý ; ½ n H ½ n K ½ n a ½ n ç ½ n ä n -
¾ n Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h Ö F h #

<- h -
3/4, 3/4 n Q3/4 n T3/4 n •3/4 n Ñ3/4 n ö3/4 n "¿ n %¿ n E¿ n ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖF
h ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖFh ☐ÖFh #

<- h
E m n „ a n - n Â n ü n 6À n `À n bÀ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<□- h□ bÀ□ dÀ□ n fÀ□ n hÀ□ n jÀ□ n lÀ□ n nÀ□ n °À□ n îÀ□ n

<□-

h□

Á n JÁ n rÁ n ÝÁ n ;Á n ,Á n ùÁ n "Á n DÁ n FÁ n ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐
h☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ #

<- h
FÂ UÂ n •Â n ÄÂ n ÆÂ n mÂ n oÂ n ÝÂ n ÓÂ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h Ó
Ä n 6Ä n qÄ n sÄ n †Ä n ¯Ä n ÚÄ n ÛÄ n ýÄ n ÖFh ÖFh ÖFh
ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
ÿ 3 n n ... n ³/₄ n Ì n Â n Ä n Æ n Ø n Ö Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h Å Æ n ?Æ n AÆ n lÆ n ^aÆ n äÆ n -
Ç n TÇ n ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
TÇ n ŠÇ n >Ç n ŰÇ n ûÇ n #È n %È n 5È n pÈ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
pÈ 'È n "È n ¹È n ùÈ n È n DÉ n FÉ n jÉ n -É n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
-É àÉ n Ê n Ê n 8Ê n VÊ n |Ê n ~Ê n €Ê n ,Ê n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh #

<- h
, " š Ō n 2 4 P % ǂ n Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh #

<- h
øî í n í a í a zí a ~í a úí a êí a î a öfh öfh ö
fh öfh öfh öfh öfh öfh

<□-

h□

< -

h□□□î□ □î□ n Oî□ n `î□ n ¥î□ n ðî□ n àî□ n

ĩ n =ĩ n Tĩ n ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐ ☐ÖFh☐h☐

<- h
Tí yí n {í n }í n •í n ¨í n Òí n Ð n Æ n HÐ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh

<- h
HĐ nĐ n SĐ n ĐĐ n ÒĐ n âĐ n ðĐ n Ñ n Ñ n 'Ñ n ÒFh Ò
Fh ÒFh ÒFh ÒFh ÒFh ÒFh ÒFh ÒFh

<- h
%Ò •Ò n 'Ò n ¼Ò n ÷Ò n &Ó n XÓ n _Ó n sÓ n ..Ó n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh

<- h
...Ó •Ó n ĀÓ n ÅÓ n ÇÓ n ÉÓ n ĚÓ n éÓ n &Ô n IÔ n ÖFh Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh

<- h
I L n b n f n S n @ n ° n ô n & n L n Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh

<- h L • n £ n ¥ n ¨ n à n " n X n " n -
 n Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh Fh

< h -
Ö ~Ö n ÒÖ n x n S n • n © n « n ç n ø n ÖFh ÖFh ÖF
h ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh

<- h
ø× # n & n 7 n q n ... n @ n ° n ² n Ä n Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh

<- h
Ä n \$ n X n _ n a n c n | n • n - n Ö Ö
Fh ÖFh ÖFh ÖFh ÖFh _ ÖFh ÖFhh

<- h
°Û ÈÛ n ÛÛ n êÛ n ìÛ n ÛÛ n >Û a @Û a cÛ a ÛÛÛ ÛÛÛ ÛÛÛ
Fh ÛÛÛ ÛÛÛ ÛÛÛ ÛÛÛ ÛÛÛ ÛÛÛ

< -

h□

< -

h□

“ú□ •ü□ ýý-ü□ ýý~ü□ ýýšü□ ýýèü□ ýý

Ÿ□ ŸŸ

~□ '□ K□ Ô- ¹# ¹' ç* â- □1 Ô5 i: À> †E
N ãQ <V ÖY = ôb 3f íj Ko ¼q x | ö€ 1f œf □† Q^ :¨ ³-
'š -ÿ ìç \$¡- å© - Iµ a» nÅ nÊ ÉÐ ïÖ €Û kâ 5å □í Iö ?û

ÿ N□□ Ž

□ ß□□ â□□ ð□□ á□□ ±□□ ´□□ -□□ š□□ ^□ □ < -
□ ð"□ Ó"□ q'□ f)□ t)□ %)□ û,□ "8□ 5=□ *@□ DK□ KX□ h_□ '□ _□ ÷c□ ñh□ pl□]q□
Ûu□ &z□ \$•□ ,f□ '^□ Ø•□ g'□ 6-
□ 6œ□ `;□ Ú;□ □ç□ ...\$□ q-□ □°□ X°□ òµ□ J»□ ìç□ DÅ□ □Ê□ ýî□ IÓ□ 0Ø□ äØ□ □Û□
ÿŸ□ □□□ □ Ó □□□ □ □ □□□ □ □ □□□ □ + □□□ □ □ □□□ □) □□□ □
□□□□□ □ □□□ □ q □□□
E □□□
' □□□

z □□□

□□□

