

INTRODUCTION

Dans les quelques mois et années qui ont suivi la découverte de la pénicilline, les médecins ont un instant pu croire que le problème de l'infection était définitivement résolu.

Pourtant, avant même que la pénicilline ne soit utilisée en thérapeutique, **ABRAHAM** et **CHAIN** observent en 1940, que des extraits de différentes bactéries détruisent la pénicilline. L'agent en cause fut dénommé quatre ans plus tard : **Pénicillinase**.

HUTTER et **WELSCH** décrivent en 1948 une substance antipénicillinase qu'ils dénomment : **Notalysine**.

Ainsi, l'aventure des antibiotiques s'est révélée être un combat contre un ennemi singulier, capable de s'adapter aux meilleurs armes élaborées contre lui.

La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des germes bactériens se révèle être une entreprise quotidienne car, la résistance bactérienne est en constante évolution ; à chaque nouveau produit découvert, les bactéries opposent des contres mesures défensives. Pour exemples, en 1989, en France, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la ticarcilline était de 12% , et de 18% en 1993 (79). En 1992 au CHUN de COTONOU au BENIN, 87% des souches de *E. coli* étaient résistantes à l'ampicilline (2). Au SENEGAL, en 1996 (78) au CHU Le DANTEC, 55,3% des souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes à la carbénicilline contre 14,5% en 1993 (4).

Cette évolution de la résistance aux antibiotiques a entraîné un changement dans l'étiologie et l'aspect clinique des maladies. Ainsi les maladies infectieuses classiques ont diminué et en milieu hospitalier, le nombre d'infections opportunistes augmente avec des bactéries de plus en plus résistantes.

Il existe peu d'informations sur la sensibilité antimicrobienne, en particulier sur les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de plusieurs antibiotiques vis - à - vis d'isolements bactériens cliniques en Afrique. De telles données sont essentielles pour le traitement de patients individuels atteints d'infections bactériennes et pour la pratique d'un contrôle des infections prévalentes au sein de la communauté.

Les objectifs de ce travail, sont :

☺ d'obtenir des données de sensibilité *in vitro* sur les pathogènes venant de spécimens cliniques divers,

☺ d'observer les profils de sensibilité aux antibiotiques principalement β -lactamines dans l'environnement local au SENEGAL.

La méthode du E-test a été utilisé pour la détermination des CMI et l'analyse des résultats a été effectuée avec le logiciel **WHONET III**.

I. LES β -LACTAMINES

Les β -lactamines constituent la plus vaste et la plus prolifique famille d'antibiotiques utilisée en thérapeutique. Ces dernières années, la famille des β -lactamines s'est enrichie de nombreuses molécules particulièrement dans le groupe des céphalosporines. Cette croissance exponentielle constitue, avec la structure spéciale des molécules de β -lactamines, une des caractéristiques de ces antibiotiques.

1.1. Caractéristiques des β -lactamines

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

1.1.1. Structure (figures 1 & 2)

Les β -lactamines ont en commun le cycle β -lactame, support de l'activité anti-bactérienne dont l'ouverture conduit à des produits inactifs.

Les molécules de β -lactamines diffèrent, dans le cas des dérivés classiques, par la chaîne latérale substituant : l'acide 6-amino-pénicillanique (**6 A.P.A.**) dans le cas des pénicillines et l'acide 7-amino-céphalosporanique (**7 A.C.A.**) pour les céphalosporines.

Il existe des dérivés dits « non classiques » ayant un noyau central modifié mais possédant une structure apparentée (**17, 80**).

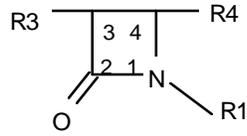
1.1.2. Mécanisme d'action des β -lactamines

Les β -lactamines appartiennent au groupe des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne . Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane ou mureïne, constituant de la paroi des bactéries à gram négatif et à gram positif en inhibant la transpeptidase qui joue le rôle de régulateur dans la synthèse de celle-ci (**15**).

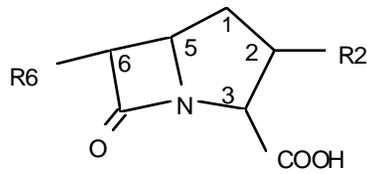
L'action des β -lactamines est liée à la structure de la paroi bactérienne.

En règle générale, la paroi des bactéries à gram positif se laisse pénétrer sans difficulté par les β -lactamines, car le peptidoglycane ne s'oppose pas au passage des molécules d'aussi petite taille.

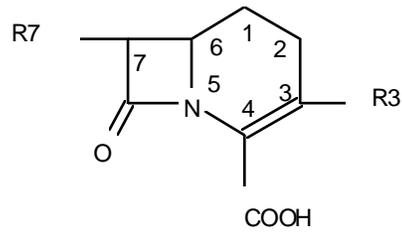
Cette règle ne s'applique pas aux bactéries à gram négatif à cause de la structure particulière de la paroi de ces bactéries qui ne laissent passer les β -lactamines qu'à travers les porines. Les porines sont des protéines transmembranaires ayant la faculté de se regrouper pour former des canaux, des pores remplis d'eau, permettant ainsi la diffusion à travers la membrane de différents solutés hydrophiles.



Cycle β -lactame

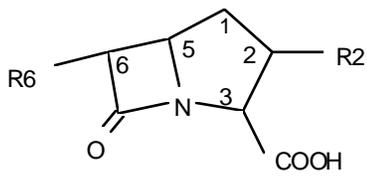


Acide 6-aminopénicillanique (6 A.P.A.)

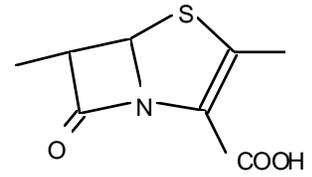


Acide 7-aminocéphalosporanique (7 A.C.A.)

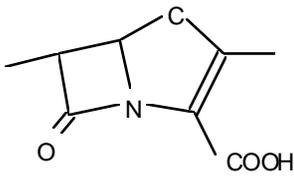
Figure 1 : Structure du cycle β -lactame et des dérivés aminés des β -lactamines



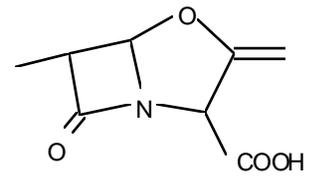
penams



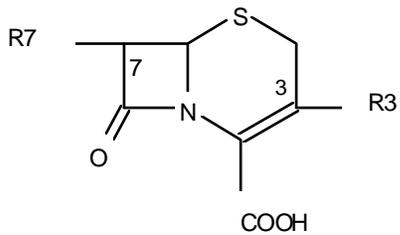
penems.



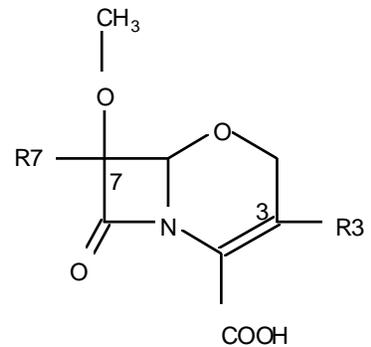
carbapenems.



oxapenems.



cephems.



oxacephems.

Figure 2 : Structure des différentes β -lactamines

Différents facteurs physico-chimiques peuvent influencer la pénétration des β -lactamines à travers la paroi bactérienne :

- l'hydrophobicité de la molécule,
- la taille de la molécule
- la charge : les composés zwitterioniques (à double charge, négative et positive : céfépime et imipénème) diffusent beaucoup plus rapidement à travers les porines que les composés ayant une charge négative unique : céfalotine, céfuroxime céfotaxime, ureïdopénicillines. Une charge négative nette (soit une charge négative unique soit deux charges négatives et une charge positive) ralentit plus fortement la diffusion à travers les porines OmpC qu'à travers OmpF.

Cependant les propriétés énoncées ci-dessus n'ont qu'une faible incidence sur la diffusion des β -lactamines à travers les porines de *P. aeruginosa*.

1.2. Classification des β -lactamines

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

- les pénicillines,
- les céphalosporines,
- les monobactames.

Selon la structure des β -lactamines on peut distinguer les :

1.2.1. Dérivés de l'acide 7-aminocéphalosporanique :

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

Les céphalosporines peuvent être classées de plusieurs manières (16) :

- *classification de Wise*
- *classification de O'Callaghan*
- *classification en générations*

Cette dernière est la plus courante : ainsi on distingue ;

- les céphalosporines de **1^{ère} génération** : Céfalotine, Céfaloridine, Céfacatril, Céfazline...
- les céphalosporines de **2^{ème} génération** : Céfuroxime, Céfamandole, Céfoxitine, Céforanide...
- les céphalosporines de **3^{ème} génération** : Céfotaxime, ceftriaxone, Ceftazidime, Céfopérazone, Cefsulodine, Latamoxef...

On a décrit récemment les 7-méthoxyimino cephèmes zwitterioniques ou céphalosporines de 4^{ème} génération (60).

1.2.2. Les dérivés de l'acide 6-Aminopénicillanique

- Les pénames ou pénicillines,
- Les pénems,
- Les carbapénems,
- Les clavams

1.2.3. Les Monobactams

La nouvelle nomenclature inclut dans les pénams :

- les ureïdopénicillines (Mezlocilline, Azlocilline, Pipéracilline ,Apalcilline) ;
- le sulbactam ;
- la témocilline

II. RESISTANCE BACTERIENNE AUX β -LACTAMINES

2.1. Notion de résistance

Pour chaque antibiotique est défini un spectre d'activité c'est-à-dire l'éventail des espèces bactériennes "**sensibles**", susceptibles d'être inhibées par des concentrations de cet antibiotique (surtout *in vivo* après utilisation d'une posologie standard).

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

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

Plusieurs définitions de la résistance des bactéries aux antibiotiques ont été retenues. Selon certains auteurs :

- une souche est dite "**résistante**" lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (46).

- une souche est dite **résistante** lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration pouvant être atteinte *in vivo* (46).

- une bactérie **résiste** à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de croître en présence d'une concentration significativement plus élevée de cet antibiotique (21).

Il existe plusieurs types de résistances bactériennes aux antibiotiques

2.2. Types de résistance

2.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou "intrinsèque" correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien à un antibiotique (66). Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce.

On peut citer les résistances naturelles des *Staphylococcus aureus* et Entérobactéries aux β -lactamines (Pénicilline G, Ampicilline et Cephalosporines), des *Streptococcus sp.* aux aminosides, des *Proteus mirabilis* aux tétracyclines.

2.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise correspond à l'acquisition d'une résistance à un antibiotique par une souche normalement sensible. Elle n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible, à l'inverse de la résistance naturelle qui est caractéristique de l'espèce (22).

La résistance acquise est évolutive, elle varie en fonction du temps, de la localisation (épidémie), de l'utilisation des antibiotiques.

L'acquisition de la résistance peut être liée à un **apport plasmidique** ou à une **mutation chromosomique**.

Cette résistance acquise observée *in vitro et in vivo* pour la plupart des bactéries et des antibiotiques rend nécessaire l'étude de la sensibilité des bactéries au laboratoire.

2.2.3. Résistance clinique

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

- facteurs environnementaux (cations, protéines inhibitrices, etc...),
- la pharmacocinétique,
- le choix judicieux de l'antibiotique,
- les mécanismes développés par les bactéries.

2. 3. Support génétique de la résistance

La cellule bactérienne contient un matériel génétique double :

- un **chromosome**, représentant le noyau de la cellule bactérienne, il est indispensable à la vie de la bactérie. Ce chromosome est constitué par un long filament d'ADN pelotonné et qui porte un grand nombre d'informations génétiques,

- la bactérie peut contenir, dans son cytoplasme, un ou plusieurs **plasmides**.

Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaire

circulaires, extrachromosomiques, douées de répllication autonome et qui sont transmises de façon stable au cours des générations. En général, les plasmides naturels des procaryotes ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie hôte (46).

Le mécanisme de résistance aux antibiotiques est fonction d'une information portée par le code génétique.

La résistance peut être codée:

- par le chromosome bactérien ; elle est dite chromosomique

- ou par le plasmide ; elle est dite plasmidique (1).

2.3.1.Résistance chromosomique par mutation

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

La mutation correspond à une addition, une délétion ou une substitution de bases dont la conséquence est une erreur de lecture du code génétique. Cette modification entraîne une résistance en :

- rendant la cellule imperméable à ces antibiotiques

- rendant les cibles pariétales (protéines de liaison à la pénicil-lines par exemple) ou intracellulaires (ADN gyrase, ARN polymérase, ribosomes), spécifiques de ces antibiotiques, indifférentes à la présence du ou des antibiotiques.

- codant pour la synthèse d'enzymes inactivantes.

La mutation peut intervenir sur un ou plusieurs loci.

Ce type de résistance est un phénomène :

- spontané

- rare (la fréquence des mutants dans une population donnée est de 10^{-6} à 10^{-9})

- indépendant de l'antibiotique qui n'agit qu'en tant qu'agent sélecteur en éliminant les populations sensibles

- spécifique

- héréditaire et stable (les fréquences de réversion sont équivalentes à celles des mutations) mais non transmissibles en dehors de la progénie.

2.3.2. Résistance par acquisition de gène

L'acquisition d'une information génétique sous forme de plasmide entraîne la synthèse de protéines nouvelles par la bactérie réceptrice. Celle-ci initialement sensible devient résistante à un ou plusieurs antibiotiques. La résistance peut alors être due à :

- l'altération de la cible de l'antibiotique
- la modification du transport de l'antibiotique (diminution de l'import actif ou mise en œuvre d'un export actif)
- l'inactivation de l'antibiotique et
- la substitution de la cible de l'antibiotique.

Les plasmides de résistance peuvent se retrouver au niveau du génome bactérien. A l'inverse on peut retrouver des transposons, initialement localisés au niveau du chromosome, sur des plasmides :

exemple 1 ; gène codant pour la résistance des *S. aureus* à la méticilline (14).

exemple 2 ; gène codant pour la pénicillinase SHV-1, d'abord naturellement trouvé sur le chromosome de *Klebsiella pneumoniae* et retrouvé ensuite sur des plasmides chez des espèces variées d'Entérobactéries (61).

2.3.3. Résistance par dérèpression de gène

Le patrimoine génétique d'une bactérie peut naturellement renfermer un gène codant pour la résistance à un ou plusieurs antibiotiques (β -lactamines, quinolones, etc...) (64,69).

Ce gène est cependant non exprimé par suite d'un blocage par le produit du gène répresseur en amont. Une mutation du gène réprimé ou l'action inductrice de certains antibiotiques (β -lactamines) peuvent entraîner une dérèpression de ce gène de résistance et vont entraîner la sélection de souches résistantes aux molécules concernées.

Ce type de résistance est stable si une mutation est en cause, mais il régressera avec retour au phénotype initial à l'arrêt de l'antibiothérapie si un mécanisme d'induction est en cause.

2.4. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

(figure 3)

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

Ces molécules agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation sur les protéines de liaison à la pénicilline (**PLP**) qui sont en fait des enzymes (transpeptidase et carboxypeptidase) essentielles à la synthèse du péptidoglycane.

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

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

La fréquence de ces mécanismes de résistance est différente **(12) (Tableau I)**.

2.4.1. Résistance par production d'enzymes

(3, 7, 11, 23, 19, 68, 74)

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

Plusieurs types d'enzymes peuvent être à l'origine de l'inactivation de ces antibiotiques. La production de β -lactamases s'est observée chez presque toutes les espèces bactériennes **(46)**.

2.4.1.1. les β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation du cycle β -lactame.

La découverte, dès 1940 d'extraits bruts de bacilles à gram négatif (*E. coli*) inactivant la benzylpénicilline montra l'existence d'un mécanisme de résistance par synthèse de "pénicillinase".

Le terme β -lactamase n'a été proposé qu'en 1960.

La pénicillinase de *S aureus* sera mise en évidence dès 1944, après, l'émergence de la résistance enzymatique ne devrait plus s'arrêter.

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

Plusieurs classifications des β -lactamases ont été proposées (7, 20, 61) selon leurs propriétés physico-chimiques, la nature de leurs inhibiteurs, leur localisation génétique (plasmide ou chromosome), leur hôtes habituels, la séquence nucléotidique de leurs gènes ou leurs compositions en acides aminés, leurs localisations bactériennes (exocellulaires ou périplasmiques), leurs affinités pour différents substrats (β -lactamines). La classification la plus utilisée est celle de **RICHMOND** et **SYKES** (tableau II) (15).

Le **tableau III** reproduit une classification simple d'utilisation pratique.

Schématiquement les β -lactamines peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases.

- Les pénicillinases.

Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines. Une faible action peut être observée avec les céphalosporines de première génération.

Les gènes codant pour les pénicillines sont portés essentiellement par les plasmides. Cependant on retrouve chez *K. pneumoniae* une enzyme type pénicillinase : SHV-1 dont le support génétique est le chromosome.

Ces pénicillinases sont fabriquées en permanence par la bactérie en l'absence de tout inducteur (constitutives) sauf celle de *S. aureus*.

Il existe une très grande variété de pénicillinases : TEM, SHV, OXA, PSE. Elles peuvent être spécifiques à un genre (pénicillinases de *S. aureus*) ou largement distribuées.

L'enzyme de type TEM est retrouvée chez les entérobactéries, les Haemophilus, les Neisseria, les Pasterella, les Pseudomonas. Elle inactive les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les ureïdopénicillines, et les premières céphalosporines.

Pseudomonas aeruginosa produit les enzymes de type CARB, OXA, TEM qui n'hydrolysent pas la céftazidime, l'imipénème, et le céfepime, contrairement aux pénicillines, à la céfopérazone et à la céf sulodine

Depuis 1983 des β -lactamases ayant un spectre très large sont apparues (40, 81) : ce sont les β -lactamases à spectre élargi (BSE).

Elles inactivent entre autre les céphalosporines de type oxyimino. La plupart de ces enzymes sont des mutants de TEM ou SHV (avec des substitutions d'acides aminés proches du site enzymatique, ce qui entraîne une affinité et une hydrolyse augmentée propre aux β -lactamines utilisées actuellement à l'hôpital (75). Ces β -lactamases sont

retrouvées chez de nombreuses entérobactéries (*Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia*) (8, 62, 74).

Récemment sont apparues :

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

Elles sont généralement chromosomiques et spécifiques d'une espèce (45, 47). Parfois présentes mais non exprimées, comme chez *E. coli*, elles peuvent s'exprimer à bas niveau ou haut niveau conduisant à des phénotypes de résistance très hétérogènes.

Le phénotype "**céphalosporinases bas niveau**" correspond généralement au phénotype sauvage de l'espèce.

Le phénotype "**céphalosporinases haut niveau**" correspond aux souches sécrétant des enzymes qui hydrolysent les β -lactamines à l'exception de l'imipéném et du mécilinam.

On retrouve ce phénotype essentiellement chez certaines entérobactéries (*Serratia*, *Entérobacter*, *Morganella*) et chez les *Pseudomonas* où ce mécanisme

Pour que la bactérie puisse produire des β -lactamases inductibles il faut qu'elle soit en présence d'un inducteur, qui est très souvent une β -lactamine (48).

Il existe cependant des inducteurs non spécifiques, qui ne sont pas des β -lactamines (acides aminés, certains alcools, vitamines, ect...) (25).

Les céphalosporinases inductibles sont rencontrées habituellement chez certaines Entérobactéries, telles que *E.cloacae*, *Hafnia alvei*, *S. marcescens*, *S liquefaciens*, *C. freundii*, *M. morgani*, *Providencia rettgeri*, *Acinetobacter*, ainsi que d'autres bacilles à gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*.

L'autre moyen pour produire plus d'enzymes serait la sélection de mutants. La mutation se traduit par la production constitutive d'une quantité 100 à 5000 fois plus importante que le phénotype "céphalosporinase bas niveau".

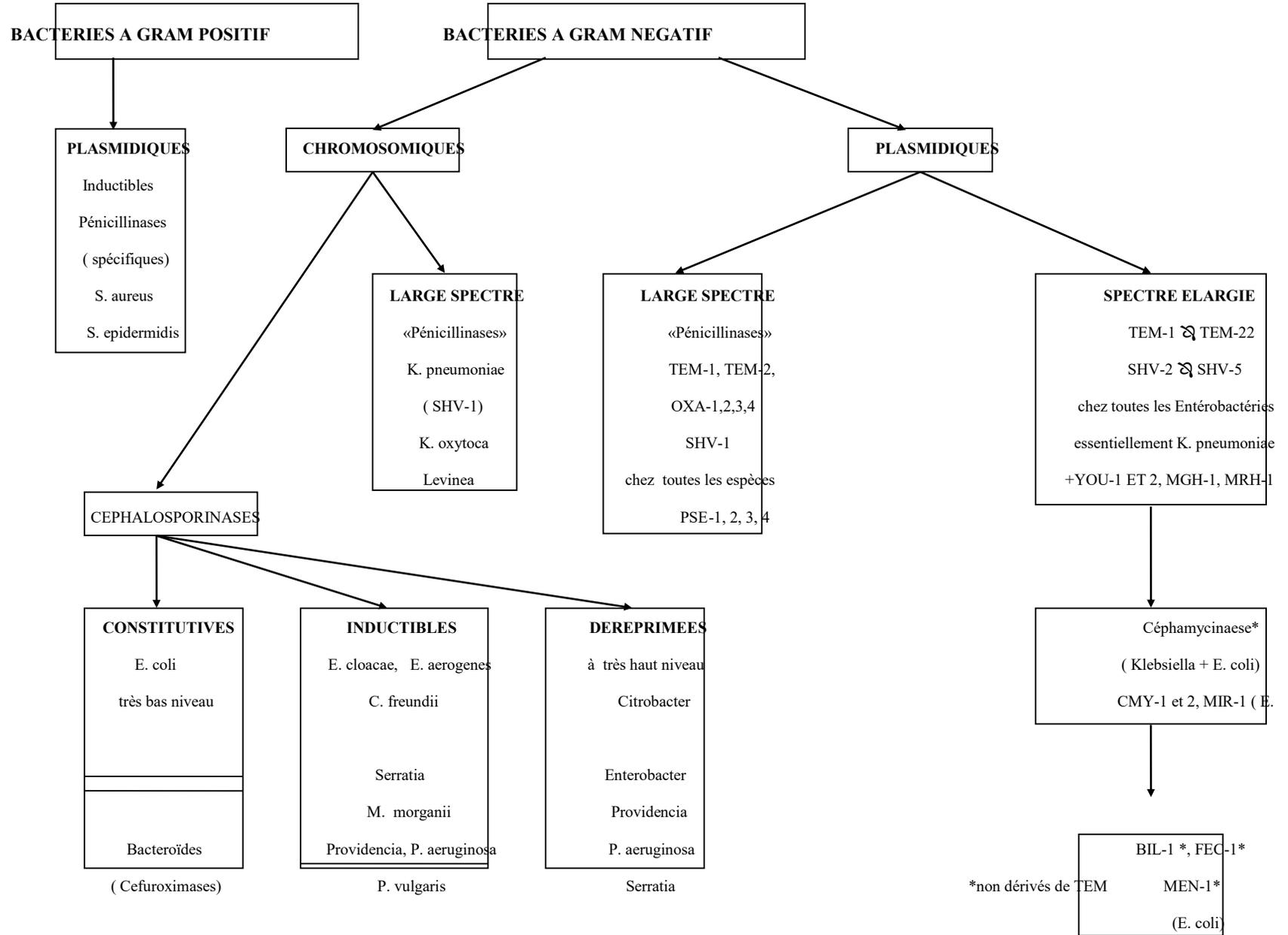
Tableau I : Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux β -lactamines

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

Tableau II : Classification de **RICHMOND ET SYKES** des β -lactamases des bactéries à gram négatif

Médiation	Type	Classe	Inductibilité	Activité préférentielle		Inhibée par		Principaux germes
				Péni	CSP	Cloxa	PCMB	
Chr	Case	Ia	I	-	+++	S	R	Entérobacter Citrobacter
Chr	Case	Ib	C	-	+	S	R	E. coli
Chr	Case	Ic	I	-	++	S	R	Proteus vulgaris
Chr	Case	Id	I	-	+	S	R	P. aeruginosa
Chr	Pase	II	C	++	-	S	R	Proteus mirabilis
Pl	Case	III	C	+++	+	S	R	Médiation plasmidique type TEM
Chr	Case	IV	C	+	+	R	S	Klebsiella species
Pl	Pase	V	C	++	-	R	S	Médiation plasmidique type OXA, PSE

Tableau III : Classification des β -lactamases



coli)

*non dérivés de TEM

Ont été décrites comme mutants dérégulés des espèces telles que : *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *Serratia sp.*, *P. aeruginosa*. Cette céphalosporinase n'est pas sensible aux inhibiteurs de β -lactamases.

Des céphalosporinase à spectre élargi sont actuellement décrites. Ce sont les céphamycinases : CMY-1, CMY-2, MIR-1, BIL-1, MOX-1. Il s'agit de β -lactamases initialement chromosomiques chez *E. cloacae*, *C. freundii*.

Selon l'enzyme intervenant et la souche, l'expression de la résistance sera variable.

2.4.1.2. Les Estérases

Ces enzymes coupent la chaîne latérale des céphalosporines les rendant inactifs.

2.4.1.3. Les Amidases

Elles hydrolysent la chaîne latérale des β -lactamines et libèrent l'acide Amino-7-céphalosporanique dans le cas des céphalosporines et l'acide Amino-6-pénicillanique dans le cas des pénicillines.

2.4.2. Résistance non enzymatiques aux β -lactamines

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

2.4.2.1. Résistances non enzymatiques chez les bactéries à gram positif

Chez les bactéries à gram positif, c'est la modification des PLP qui représente le mécanisme principal de la résistance non enzymatique (33).

Plusieurs PLP sont présentes dans chaque espèce et parmi celles-ci, il existe généralement une PLP dite "essentielle", dont l'affinité pour les β -lactamines est corrélée à la CMI (38).

Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrés (Tableau IV).

- La diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les β -lactamines.

Dans ce cas l'affinité est diminuée pour toutes les β -lactamines mais de manière inégale selon les molécules. Une telle modification a été démontrée avec la PLP-1 de *Clostridium perfringens*, modification qui s'accompagne d'une augmentation d'un facteur 100 de la CMI pour la pénicilline et d'un facteur 10.000 pour la céfotaxime.(87)

- L'augmentation de la quantité de PLP

Ce mécanisme a été bien étudié chez *Enterococcus faecium*. On a démontré que la PLP-5, présente en faible quantité dans les souches sensibles, augmente quantitativement d'un facteur 10 à 20 dans les souches résistantes et peut

s'accompagner d'une diminution d'affinité pour les β -lactamines. Cette PLP prend la fonction de PLP essentielle par rapport aux autres.

- Acquisition d'une nouvelle PLP qui va prendre le rôle de PLP essentielle. C'est le cas de *S. aureus* résistante à la méthicilline (33, 37).

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

2.4.2.2. Résistances non enzymatiques chez les bactéries à gram négatif (Tableau V)

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

2.4.2.2.1. Rôle de la perméabilité dans la résistance des bactéries gram négatif aux β -lactamines

Contrairement aux bactéries à gram positif où les péptidoglycanes ne représentent pas une barrière pour la diffusion des β -lactamines, il existe au dessus du péptidoglycane une barrière de diffusion liée à la présence de la membrane externe (57).

Chez les bactéries à gram négatif, la pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides, s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau.

La sensibilité aux antibiotiques dépend du nombre de porines fonctionnelles. C'est chez *E. coli* que la relation entre les porines et les β -lactamines a été le mieux étudié (41). Deux types de porines sont présentes chez *E. coli* OmpC et OmpF. Chez les mutants OmpC⁻, la pénétration des β -lactamines n'est pas diminuée car le diamètre de la porine OmpF est suffisamment large. Au contraire l'absence de OmpF s'accompagne d'une résistance à la céfoxitine (4 x la CMI) sans modification de la CMI pour la céfaloridine.

Tableau IV : Résistances liées à des modifications de PLP chez des bactéries à gram positif

	Espèce
Diminution d'affinité pour les β -lactamines	C. perfringens
	S. pyogenes
Augmentation de la quantité d'une PLP	Entérocoques

essentielle	
Acquisition d'une nouvelle PLP	S. aureus
Multiples modifications	S.pneumoniae

Tableau V : Mécanismes de résistance non enzymatiques aux β -lactamines chez les bactéries à gram négatif

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

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

Des résultats variables ont été obtenues pour les céphalosporines de troisième génération (26,64) avec généralement une faible augmentation plus marquée pour le moxalactam (10 - 100 X la CMI)

Ce mécanisme de résistance à été rapporté dans d'autres espèces : les Salmonelles, les Klebsielles, les Serratia et les Enterobacter (35, 36, 57, 64, 72, 77).

Trias et Nikaïdo ont montré l'existence chez les *Pseudomonas* d'une porine (porine D2) responsable du transport spécifique des carbapénèmes et dont l'absence ou la fermeture explique la résistance isolée à l'imipéném non croisée aux autres β -lactamines ou aux autres antibiotiques hydrophiles.

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

L'efficacité des β -lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP.

La liaison antibiotique / cible est liée à la structure de la cible. Diverses mutations peuvent entraîner des modifications diminuant l'efficacité de l'antibiotique.

L'altération des PLP n'a été que rarement démontrée chez les bactéries à gram négatif (24, 50, 77)

Le rôle des PBP dans la résistance bactérienne intrinsèque a été mis en évidence chez des mutants de *E coli* qui avaient une résistance augmentée au mécillinam et à l'imipéném due à une diminution de l'affinité des PLP-2 pour ces antibiotiques alors que les mutations touchant la PLP-3 s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis des céphalosporines (77).

2.4.2.2.3. Autres mécanismes de résistance aux β -lactamines

a) - Altération du LPS

La modification de la composition du LPS soit dans le polysaccharide soit dans le core semble être un des mécanismes possibles et fréquents de la résistance non enzymatique des *Pseudomonas* aux β -lactamines(34).

b) - Tolérance bactérienne

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

Ce phénomène est surtout marqué pour les β -lactamines vis-à-vis des Streptocoques.

c) - Persistance bactérienne

On observe une persistance du germe *in vivo* en présence de l'antibiotique. Ceci s'explique par une perte ou une diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène avec comme conséquence une modification du métabolisme bactérien.

Ce phénomène a été observé avec les β -lactamines mais également avec les autres antibiotiques

III METHODES DE DETERMINATION *in-vitro* DES CMI

3.1- Définition de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (**CMI**) est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique inhibant en 18 à 24 heures, la multiplication des bactéries.

Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories:

- **sensible (S)** ; lorsque la CMI déterminée *in vitro* est inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique.

- **résistante (R)** ; lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte *in vitro* sans utiliser des doses toxiques.

- **intermédiaire (I)** ; lorsque, à cause de la valeur élevée de la CMI, les microorganismes ne pourront être atteints avec une antibiothérapie standard, mais pourront l'être par un traitement administré par voie générale à forte dose (possible seulement avec les produits pas ou peu toxiques) ou par voie locale, ou encore si l'antibiotique se concentre là où siège l'infection.

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être réalisée en recourant à une méthode par dilution ou par diffusion de l'antibiotique.

3.2.- Méthode par dilution

C'est la méthode de référence. Elle peut être pratiquée en milieu liquide ou solide.

3.2.1.- Méthode par dilution en milieu liquide

On prépare une série d'une dizaine de tubes à hémolyse stériles (ou dans les cupules d'une plaque) dans lesquels on répartit une même quantité de bouillon nutritifensemencé avec une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance, diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10^6 bactéries/ml (inoculum microbien optiquement invisible). On distribue ensuite dans chaque tube à l'exception du premier qui servira de témoin, sous un même volume, des concentrations croissantes de l'antibiotique étudié, réalisant une gamme de concentration en progression géométrique de raison 2.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, on observe macroscopiquement pour déterminer la CMI. Dans un certain nombre de tubes, la culture s'est développée, un trouble nettement visible en est la traduction. A partir d'une certaine concentration, il n'y a plus de culture

visible. Le premier tube dans lequel il n'y a plus de culture indique la CMI encore appelée taux inhibiteur ou taux de sensibilité de la souche étudiée

3.2.2.- Méthode par dilution en milieu solide

Consiste à incorporer l'antibiotique dans la gélose coulée en boîte de pétri, réalisant comme précédemment une gamme de concentrations croissantes.

La souche estensemencée en une strie ou en spot à la surface de la gélose.

Ces deux techniques de dilution sont très laborieuses et ne sont pas habituellement appliquées à la détermination, en routine, de l'activité d'un grand nombre d'antibiotiques sur une souche bactérienne. La méthode par diffusion permet de pallier à cet inconvénient.

3.3. Méthode par diffusion (antibiogramme: méthode des disques)

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé avec une suspension de bactéries (inoculum 10^6 bactéries/ml) en phase de croissance exponentielle. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).

Après incubation du milieu de culture (18 heures à 37°C), on constate que chaque disque est entourée d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne : la multiplication des microorganismes s'arrête là où existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI. Pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur (approchée) de la CMI de l'agent antimicrobien vis-à-vis de la souche étudiée.

En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur du diamètre d'inhibition de croissance et celle de la CMI, celle ci étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des bactériennes différentes.

3.4. Microméthodes d'étude "in vitro" de la sensibilité des germes aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été la première des séquences de l'analyse microbiologique qui a pleinement bénéficié de l'automatisation.

Les appareils utilisés fonctionnent schématiquement selon deux principes :

- ils miment les tests conventionnels d'étude de la sensibilité (antibiogramme par diffusion ou détermination de la CMI en milieu liquide)
- ils comparent la croissance d'un témoin à celle observée en présence

d'une ou plusieurs concentrations d'antibiotiques à l'aide d'indices propres à chaque machine. La détection de la croissance peut se faire de manière :

- directe par turbidimétrie ou par néphélémétrie. La plupart des instruments utilisés ne détectent un trouble que si la densité bactérienne atteint 10^7 bactéries /:ml

- indirecte : ces méthodes permettent d'estimer la biomasse en mesurant certaines activités enzymatiques bactériennes à l'aide de substrats chromogènes ou fluorogènes incorporés au milieu.

3.5. Le E-test[®] (Epsillométer-test)

C'est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester couvrant une zone de 15 dilutions allant de 0,016 à 256 mg/l ou de 0,002 à 32 mg/l en fonction des molécules (**figure 4**). Il a été standardisé conformément aux normes du comité national des laboratoires cliniques (NCCLS) (**53, 54**).

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

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

Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse (**figure 5**) dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture imprimée à la face supérieure de la bandelette, permet une interprétation rapide (lecture directe de la valeur de la CMI).

IV : LECTURE INTERPRÉTATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME

En matière d'antibiogramme, il ne suffit plus aujourd'hui de travailler correctement et de transcrire fidèlement les résultats bruts. Pour que l'antibiogramme soit directement utilisable par le biologiste il faut procéder à une lecture interprétative des résultats bruts.

La lecture interprétative de l'antibiogramme consiste à déduire le génotype d'une bactérie (soit le mécanisme de résistance) à partir de l'expression visible sur l'antibiogramme (soit le phénotype) et à corriger la réponse brute de l'antibiogramme (tableau VI). Ceci est possible en étudiant un ensemble judicieusement sélectionné d'antibiotiques.

Ces antibiotiques peuvent ne pas être utilisés en thérapeutique mais testés, dans le but de détecter un certain nombre de mécanismes biochimiques de résistance.

L'antibiogramme sera donc conçue pour permettre une réponse valable pour chaque classe de molécule.

Tableau VI : Phénotypes sauvages et phénotypes de résistance acquise aux β -lactamines

	PHENOTYPE SAUVAGE		
	<i>E.coli</i> , <i>P. mirabilis</i>	<i>Klebsiella</i> <i>C. diversus</i>	<i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Morganella</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Serratia</i>
Ampicilline, Amoxicilline,	S	R	R
Amoxicilline + Ac. clavulanique	S	S	R
Ticarcilline,	S	R	S
Pipéracilline, Mezlocilline	S	I	S
Mécillinam	S	I	
<i>Céphalosporines</i> :			
■ Cefalotine,Cefamandole, Cefopérazone	S	S	R
■ Ceftriaxone, Céfotaxime, ceftazidim	S	S	S
<i>Cephamycines</i> : Céfoxitine,Cefotetan	S	S	S/R
Moxalactam, Aztreonam	S	S	S
Imipenem	S	S	S
		Pase bas niveau	Cse bas niveau
PHENOTYPES DE RESISTANCE ACQUISE			
	Pase haut niveau	BSE	Case haut niveau
Ampicilline, Amoxicilline,	R	R	R
Amoxicilline + Ac. clavulanique	R	R	R
Ticarcilline,	R	R	S
Pipéracilline, Mezlocilline	R	R	S
Mécillinam	R	R	S/R
<i>Céphalosporines</i> :			
■ Cefalotine,Cefamandole, Cefopérazone	R	R	R
■ Ceftriaxone, Céfotaxime, ceftazidim	S	R	S
<i>Cephamycines</i> : Céfoxitine,Cefotetan	S	S	S/R
Moxalactam,	S	S	S
Aztreonam	S	R	S
Imipenem	S	S	S

Ce travail a été réalisé au laboratoire de
BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE de l'hôpital A.
Le DANTEC (H.A.L.D.) de DAKAR (SENEGAL)

II MATERIEL ET METHODES

2.1. Souches bactériennes

2.1.1. Souches à tester

Notre étude a porté sur **196** souches bactériennes isolées et identifiées, selon les méthodes classiques d'isolement et d'identification, au laboratoire de bactériologie - virologie de l'hôpital A. Le DANTEC (H.A.L.D.), à l'Institut Pasteur de DAKAR (IP), au laboratoire de bactériologie de l'hôpital de FANN, au laboratoire de bactériologie de l'hôpital PRINCIPAL de DAKAR (H.P.D.), au laboratoire de bactériologie de l'hôpital d'Enfant Albert Royer (H.E.A.R.).

Ces souches sont réparties, en nombre, de manière suivante :

- Bactériologie - virologie H.A.L.D. 153 (78%)
- Bactériologie H.E.A.R. 23 (12%)
- Bactériologie FANN 14 (7%)
- Institut Pasteur de DAKAR 2 (1%)
- Hôpital PRINCIPAL de DAKAR 4 (2%)

Les espèces bactériennes sur lesquelles nous avons travaillé sont (tableau VII) :

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Haemophilus influenzae*
- *Proteus spp*

Ces souches proviennent de produits pathologiques divers (Tableau VIII) :

- Urines,
- L.C.R.,
- Hémoculture,
- Pus chirurgicaux,
- Liquides articulaires,
- Liquides pleuraux,

Ces souches ont été isolées entre 1994 et 1997

Toutes les souches testées ont été conservées à - 70° C dans des cryotubes

(NUNC®) contenant du Bouillon Coeur Cervele (BCC) additionné de 15% de glycérol en trois exemplaires sur trois portoirs différents.

2.1.2. Souches de référence

L'utilisation des souches de référence permet de vérifier la conformité des résultats du test. Les souches de référence recommandées par le fabricant (AB Biodisk, Sölna, Sweden) sont les suivantes :

- *Eschérichia coli* ATCC 35218
- *Eschérichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Haemophilus influenzae* ATCC 49247

2.2. Matériel et réactifs

2.2.1. Réidentification des souches bactériennes

L'isolement des germes bactériens a été effectuée sur gélose ordinaire ou enrichie selon le germe.

Pour la réidentification des germes nous avons utilisé les méthodes d'identification en microplaque mises au point au laboratoire de bactériologie-virologie de l'H.A.L.D. .(55, 56)

2.2.2 - Matériel pour le E-test

*Matériel

- Bandes de E-test,
- Applicateur de E-test,
- Paquet d'insertion des bandes,
- Boîtes de pétri de 150mm et 90mm de diamètre,
- Paire de ciseaux,
- Ecouillons stériles,
- Tubes à essai stériles,
- spectrophotomètre,
- guide technique pour E-test,
- Normes NCCLS et indications M 100 - S,

Tableau VII : Effectif des souches bactériennes

Espèces bactériennes	Nombre	Pourcentage
----------------------	--------	-------------

<i>S. aureus</i>	41	21%
<i>S. pneumoniae</i>	28	14%
<i>K. pneumoniae</i>	29	15%
<i>E. coli</i>	40	20%
<i>Proteus sp</i>	9	5%
<i>P. aeruginosa</i>	19	10%
<i>H. influenzae</i>	30	15%
TOTAL	196	100%

Tableau VIII: Répartition des souches en fonction des produits pathologiques

	Urines	Sang	Pus	LCR	Autres
<i>S. aureus</i>	1	5	35	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	0	1	10	17	0
<i>K. pneumoniae</i>	13	4	11	0	1
<i>E. coli</i>	19	7	14	0	0
<i>Proteus sp</i>	1	1	6	0	1
<i>P. aeruginosa</i>	9	1	9	0	0
<i>H. influenzae</i>	0	3	2	22	3
TOTAL	43	22	87	39	5
Pourcentage	22%	11%	44%	20%	3%

***Réactifs**

- Eau physiologique,

- Milieux : ** Müller Hinton

 ** GSC simple

** GSC + polyvitex®

- Echelle Mc Farland (0,5)

2.2.3. Détection des β -lactamases

a)- Méthode à la "céfinase" (*Biomérieux*)

*Matériel

- Lames porte objet,
- Pipettes Pasteur.

*Réactifs

- Disque de nitrocéfine,
- Eau physiologique.

b)- Méthode iodométrique

*Matériel

- Tubes à hémolyse,
- Micropipettes,
- Embouts.

*Réactifs

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

2.2.4. Matériel pour la conservation

- Cryotubes type NUNC® pour la conservation.
- BCC additionné de 15% de glycérol
- Lait écrémé à 10%
- Sérum de veau foetal
- Gélose au sang cuit en boîte ou en tube avec une pente

2.2.5. Matériel pour l'analyse des résultats

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel **WHONET III (58)**.

Le **WHONET** est une série de programmes informatiques qui facilite la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de germes bactériens. Des programmes d'analyse utilisant ces données aident à la meilleure compréhension de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques et

le développement de pratiques de prescription rationnelles et de procédures de contrôle des infections. Ces données pourront être employées à un niveau local et pourront aider les laboratoires dans la sélection des antibiotiques en reconnaissant et en soulevant des problèmes de résistance au plan local et en identifiant des problèmes de contrôle de qualité.

Le but du programme **WHONET** est l'établissement de réseaux nationaux et internationaux de surveillance continue de la résistance sur une échelle assez large.

2.3. Méthodes

2.3.1. Méthode détermination de la sensibilité par E-test

a) - Sortir les paquets de bandes et les tubes de rangement du freezer (-20°C) et laisser les bandes à la température ambiante,

b) - Lire la notice intérieure,

2.3.1.1. Préparation de l'inoculum

a) - Utiliser des colonies viables pour préparer l'inoculum,

b) - Homogénéiser individuellement les colonies viables de 24 à 48 heures dans une solution convenable de NaCl à 8,5 g%

c) - Ajuster la turbidité de la suspension à 0,5 Mc Farland en déterminant la D.O. au spectrophotomètre comparativement à celle du témoin.

2.3.1.2. Inoculation

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

Ensemencer sur des boîtes de pétri contenant de la gélose d'une épaisseur de 4 ± 0.5 mm.

S'assurer que la surface gélose est bien sèche avant de procéder à l'écouvillonnage.

Plonger un écouvillon dans l'inoculum, bien essorer l'écouvillon sur les bords du tube, écouvillonner entièrement la surface de la gélose dans trois directions différentes .

Laisser sécher à la température ambiante environ une quinzaine de minutes.

2.3.1.3. Application des bandes

Il faut s'assurer que la surface de la gélose ensemencer est entièrement sèche.

Avec l'applicateur, déposer la bande de E-test sur la gélose.

Il faut toujours appliquer la bande en mettant l'échelle de la CMI face à l'ouverture de la boîte. Il ne faut pas la mettre à l'envers.

Assurer un bon contact entre la bande et la gélose en appuyant sur la bande en partant de la base.

Il ne faut jamais déplacer la bande après application, car l'antibiotique diffuse immédiatement après contact dans la gélose.

2.3.1.4. Incubation

Le temps et l'atmosphère d'incubation dépendent du germe à tester (**Annexe II**).

2.3.1.5. Lecture

les boîtes sont lues après la période d'incubation recommandée, à condition d'avoir une croissance significative à la surface de la gélose et que l'ellipse d'inhibition soit clairement visible. (**figure 6**)

La C.M.I. est lue au point d'intersection de l'ellipse et de la bande (**figure 5**).

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

- l'observation d'un décrochage ou "**dip**" dans la zone de lecture impose de lire la CMI en extrapolant la courbe de l'ellipse (**figure 7**).

- la présence de colonies "**squatter**" doit être analysée ; il peut s'agir d'une résistance hétérogène, de l'émergence de mutants résistants ou de mélanges bactériens (**figure 8**).

- l'existence d'une hémolyse sur gélose au sang peut rendre délicate l'estimation de la CMI et ne doit pas interférer avec la lecture (**figure 9**).

- la présence d'une croissance bactérienne en ligne le long de la bandelette n'a pas de signification bactériologique et est certainement due à gélose insuffisamment séchée avant le dépôt de la bandelette (**figure 10**).

- les points d'intersection sur la bandelette peuvent être asymétriques ; la CMI correspond à la concentration la plus haute lue sur la règle (**figure 11**).

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

2.3.1.6. Contrôle de qualité

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

- Les souches de référence

Un certain nombre de règles doivent être respectées ;

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

- Milieux et réactifs

Pour assurer une bonne qualité des résultats il faut :

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

2.3.2. Méthodes de détection des β -lactamases :

2.3.2.1. Méthode à la céfinase

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

b) Technique

On utilise des disques imprégnés à la nitrocéfine + BCP (disque de céfinase).
ces disques sont imbibés d'eau physiologique, puis on y dépose une anse de colonie grâce à une pipette Pasteur.

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

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

2.3.2.2. Détection par iodométrie

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

En présence de β -lactamase, l'amidon reste incolore et en l'absence d'attaque de la Pénicilline, l'amidon se combine avec l'iode et donne une coloration bleue (84)

b) Technique

Pour préparer le substrat,

- dissoudre la Pénicilline G dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 6,0) pour avoir une concentration de 6 mg/l ;

- ajouter 1 g d'amidon dans 100 ml d'eau distillée, mettre dans un bain marie jusqu'à la dissolution

- préparer la solution de lugol en dissolvant 2,03 g d'iode et 53,2 g d'iodure de potassium (KI) dans un petit volume d'eau distillée, puis compléter à 100 ml, conserver dans un flacon de verre coloré.

Pour détecter la β -lactamase, déposer 0,1 ml de la solution de Pénicilline G dans un puits d'une plaque de microdilution ou dans des tubes à hémolyse, et ajouter 2 gouttes de solution d'amidon et une goutte de Lugol ; mélanger cette solution à une suspension de germes.

Si la souche produit une β -lactamase, on obtient une décoloration en 10 minutes.

III RESULTATS

Au cours de notre étude un ensemble d'antibiotiques ont été testés sur neuf (09) espèces bactériennes. La recherche de β -lactamases a été effectuée sur certaines souches. Toute les entérobactéries testées ont été phénotypées.

3.1. Résultats globaux :

3.1.1. Résultats de la sensibilité aux β -lactamines

Pour chaque espèce les résultats des CMI sont présentés dans les tableaux. Nous avons représenté la distribution des souches testées en fonction des CMI par des histogrammes.

Les résultats de notre étude montrent :

S. aureus ; (Tableau IX, figure 12 a \wedge c)

90% des souches testées sont Méti-S

La résistance à la pénicilline est élevée tandis que l'association amoxicilline / acide clavulanique garde une bonne activité sur le staphylocoque doré. Cependant sa CMI 90 est proche du seuil de sensibilité (4 μ g / ml).

E. coli ; (Tableau X, figure 14 b \wedge d)

L'amoxicilline présente une mauvaise activité. L'association de l'acide clavulanique restaure l'activité de l'amoxicilline avec un taux de sensibilité de **72%** mais, les CMI demeurent élevées (CMI 50 = 6 μ g / ml et CMI 90 = 24 μ g / ml) et supérieures au seuil de sensibilité (8 μ g / ml)

Cette résistance s'accompagne d'une résistance au mécillinam, à la pipéracilline et à la cefalotine. La cefotaxime a la meilleur activité (96% de souches inhibées) avec des CMI basses 0.047 μ g / ml et 0.19 μ g / ml respectivement pour la CMI 50 et la CMI 90. La cefoxitine inhibe 95% des souches avec une CMI 90 faible (6 μ g / ml).

K. pneumoniae : (Tableau XI, figure 15 a \wedge g)

Aucune souche testée n'a été sensible à l'amoxicilline. Cette résistance s'accompagne d'une résistance au mécillinam à la pipéracilline et à la cefalotine.

Une bonne activité à été notée avec la cefoxitine et la cefotaxime, cette dernière ayant présenté une CMI 90 inférieure au seuil de sensibilité (6 μ g / ml).

Proteus spp : (Tableau XII, figure 13 a \wedge g)

55% des souches isolées sont sensibles à l'amoxicilline. L'association de l'acide clavulanique à la molécule augmente la sensibilité mais les CMI demeurent élevées :

48 µg / ml pour la CMI 90. La pipéracilline conserve une bonne activité avec des CMI élevées. Les cephalosporines ont présenté une bonne activité sur les souches testées mais à des CMI 90 supérieures au seuil de sensibilité.

S. pneumoniae : (Tableau XIII, figure 18 c ^ g)

7% des souches se sont montrées résistantes à la pénicilline, 75% ont une sensibilité anormale à la pénicilline. Tous les germes testés ont été sensibles à l'association amoxicilline-acide clavulanique avec des CMI basses.

La cefalotine et la ceftriaxone sont restées actives, mais seule la cefalotine a présenté de faibles CMI.

P. aeruginosa : (Tableau XIV, figure 16 a ^ d 16f)

La ticarcilline a inhibé 47% des souches testées. L'association avec l'acide clavulanique a amélioré la sensibilité mais la CMI 90 est restée élevée.

La cefoxitine, la cefalotine, la pipéracilline, ont donné des taux de sensibilité de respectives de 56% , 44% et 89% pour des CMI 90 élevées. La ceftazidime a inhibé 95% des souches avec une CMI 90 de 8µg / ml.

H. influenzae : (Tableau XV, figure 17 a ^ b)

Nous avons observé une très bonne action de l'amoxicilline.

Tableau IX : CMI 50 et CMI 90 des souches *S.aureus*

Antibiotiques	Effectif total			Souches β lactamases positives			Souches β lactamases négatives		
	Plages des CMI ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 50 (($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 90 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Plages des CMI ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 50 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 90 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Plages des CMI ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 50 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	CMI 90 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
PEN	0.064 512	16	512	0.64 512	256	512	0.064 512	4	512
OXA	0.032 128	0.5	1.5	0.25 4	0.5	1.5	0.064 8	0.5	4
AMX / AC	0.125 32	1.5	4	0.125 4	1.5	3	0.125 8	1.5	3
GEN	0.125 128	0.75	6	0.25 2	0.75	1.5	0.125 128	0.5	6
TET	0.25 512	192	512	0.25 512	192	512	0.25 512	64	512
ERY	0.064 512	0.25	512	0.125 512	0.25	0.5	0.064 512	0.25	3
CLI	0.032 512	0.25	12	0.064 512	0.38	8	0.064 512	0.125	12
RIF	0.004 512	0.016	0.016	0.004 512	0.016	0.032	0.016	0.016	0.016
FUS	0.08 512	0.25	3	0.016 1	0.125	0.5	0.016 512	0.25	12
VAN	0.5 512	2	6	1 512	2	6	0.5 64	3	6
SXT	0.064 64	0.125	64	0.064 64	0.125	64	0.064 64	0.094	64

Tableau X : CMI 50 et CMI 90 des souches *E. coli*

Antibiotiques	Effectif total			Souches β lactamases positives			Souches β lactamases négatives		
	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90
AMX	2 512	512	512	4 512	512	512	512	512	512
AMX / AC	2 32	6	24	2 32	8	24	12	12	12
MEC	0.032 512	8	512	0.125 512	512	512	512	512	512
PIP	0.5 512	512	512	1 512	512	512	512	512	512
KEF	4 512	32	512	8 512	6	256	64	64	64
FOX	1 32	2	6	1 6	3	6	4	4	4
FTX	0.032 16	0.047	0.19	0.032 0.16	0.064	12	0.125	0.125	0.125
GEN	0.5 512	1.5	512	0.5 512	2	512	2	2	2
AMK	1 16	3	4	1 16	3	4	3	3	3
TET	4 512	512	512	4 512	512	512	512	512	512
CIP	0.008 512	0.023	0.094	0.016 512	0.032	24	0.047	0.047	0.047
SXT	0.064 64	64	64	0.064 64	64	64			
NAL	2 512	8	512	4 512	12	512	12	12	12

Tableau XI : CMI 50 et CMI 90 des souches *K. pneumoniae*

Antibiotiques	Effectif total			Souches β lactamases positives			Souches β lactamases négatives		
	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90
AMX	32 512	512	512	512	512	512	32 512	512	512
AMX / AC	0.5 32	3	16	1.5 32	3	24	0.5 4	2	3
MEC	0.25 512	512	512	0.5 512	512	512	0.5 512	512	512
PIP	1 512	24	512	4 512	16	512	1.5 16	8	128
KEF	2 512	12	512	1.5 512	12	512	2 16	4	12
FOX	0.125 128	3	16	1.5 32	3	32	1 4	3	4
FTX	0.032 512	0.064	6	0.032 512	0.047	512	0.032 0.125	0.047	0.125
GEN	0.25 512	1.5	512	1 512	2	512	0.25 1	0.5	1
TET	4 512	12	512	1 32	512	512	4 16	1.5	2
CIP	0.032 16	0.094	0.5	0.032 1	0.094	1	0.032 0.25	0.064	0.19
NAL	2 512	32	512	8 512	64	512	2 16	8	16
SXT	0.064 512	0.25	64	0.032 64	0.38	64	0.064 0.25	0.064	0.25

Tableau XII : CMI 50 et CMI 90 des *Prouteus spp.*

ANTIBIOTIQUES	PLAGE DES CMI		CMI 50 µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	1	512	3	512
AMX / AC	1	64	1.5	48
MEC	0.5	512	2	512
PIP	0.25	64	0.75	48
KEF	4	32	12	512
FOX	2	32	4	32
FTX	0.016	32	0.032	32
GEN	0.032	4	1.5	4
AMK	2	64	4	48
CIP	0.032	1	0.064	1
SXT	0.25	512	0.5	512

Tableau XIII : CMI 50 et CMI 90 de *S. pneumoniae*

ANTIBIOTIQUES	PLAGE DES CMI		CMI 50 µg / ml	CMI 90 µg / ml
PEN	0.016	8	0.75	1.5
AMX	0.016	1	0.032	0.5
AMX / AC	0.008	05	0.016	0.25
KEF	0.064	4	0.19	2
CRO	0.016	2	0.023	1
CHL	1	32	3	6
ERY	0.032	128	0.094	0.19
CLI	0.064	512	0.19	0.38
RIF	0.032	0.5	0.094	0.38
VAN	2	16	4	6

Tableau XIV : CMI 50 et CMI 90 des souches *P. aeruginosa*

Antibiotiques	Effectif total			Souches β lactamases positives			Souches β lactamases négatives		
	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90
TIC	1 512	96	512	512	512	512	8 512	512	512
TIM	1 512	48	512	512	512	512	8 512	38	128
PIP	1 512	16	512	512	512	512	4 64	24	64
CAZ	0.25 16	3	8	1 16	1.5	12	1 8	3	8
IPM	0.5 4	2	3	0.25 4	0.5	3	1 2	2	2
GEN	4 512	8	512	512	512	512	4 512	8	512
AMK	1 16	6	12	2 8	3	8	2 16	4	12
CIP	0.064 64	0.38	64	4	4	4	0.25 64	0.38	64

Tableau XV : CMI 50 et CMI 90 des souches *H. influenzae*

Antibiotiques	Effectif total			Souches β lactamases positives			Souches β lactamases négatives		
	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90	Plages des CMI	CMI 50	CMI 90
AMX	0.25 2	0.5	1	1	1	1	0.25 1	0.5	1
AMX / AC	0.25 1	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.25 1	0.5	0.75
CHL	0.25 4	1	1	1	1	1	0.5 4	1	3
TET	0.25 32	1	12	1	1	1	0.5 16	2	16
ERY	2 32	6	8	8	8	8	2 8	8	8
SXT	0.5 64	6	64	64	64	64	64	64	64

3.1.2. Résultats de la détection des β -lactamases

La recherche de β -lactamases n'a pu être effectuée que sur certaines souches. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau XV.

Tableau XVI : Résultats de la détection des β -lactamases

Espèces	Nombre de souches testées	souches β -lactamases positives	
		Nombre	pourcentage
<i>S. aureus</i>	33	20	61%
<i>E. coli</i>	18	17	94%
<i>K. pneumoniae</i>	15	8	53%
<i>P. aeruginosa</i>	10	2	20%
<i>H. influenzae</i>	7	1	14%

La production de β -lactamases est plus élevée avec *E. coli*.

H. influenzae est faiblement sécrétrice de β -lactamases.

3.1.3. Résultats du phénotypage

Les Entérobactéries ont été phénotypées suivant les critères du tableau VI.

Nous avons retrouvé les phénotypes suivants :

Tableau XVII : Résultats des phénotypes de résistances des Entérobactéries (%)

Phénotype	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Sauvages	11 (29%)	-	6 (66,67%)	10 (53%)
Pénicillinase bas niveau	1 (3%)	23 (79%)	2 (22,22%)	9 (47%)
Pénicillinase haut niveau	10 (26%)	2 (7%)	-	-
Céphalosporinase bas niveau	-	3 (10%)	1 (11,11%)	-
Pénicillinase + Céphalosporinase	16 (42%)	-	-	-
β-lactamase à spectre étendu	-	1 (4%)	-	-

3.1.4. Profil de sensibilité aux autres antibiotiques

S. aureus (Tableau IX, figure 12 d [▲] j)

A l'exception de la tétracycline, tous les autres antibiotiques testés présentent une bonne activité, avec un taux d'inhibition > 70%. La rifampycine présente la meilleur activité avec une CMI 90 basse.

E. coli (Tableau X, figure 14a et 14 e [▲] i)

Nous notons une très bonne action l'amikacine et de la cirpofloxacine avec des CMI 90 faibles, respectivement 4µg / ml et 0,094µg / ml.

La tétracycline et l'association Triméthoprim-sulfaméthoxazole ne sont pas actives sur *E. coli*.

Proteus spp. (Tableau XII, figure13 h [▲] k)

L'activité des autres antibiotiques est conservée. La gentamicine et la ciprofloxacine inhibent toutes les souches. La résistance à l'amikacine est nulle mais sa CMI 90 est élevée (48 µg / ml). Une résistance de 33% des souches est notée avec l'association Triméthoprim-sulfaméthoxazole.

K. pneumoniae (Tableau XI, figure15 h [▲] l)

La gentamicine et l'association Triméthoprim-sulfaméthoxazole inhibent respectivement 72% et 73% des souches mais à CMI élevées. L'acide nalidixique et la tétracycline ont des activités moyennes. La ciprofloxacine et l'amikacine sont très actives sur les germes avec des CMI faibles.

S. pneumoniae (Tableau XIII, figure 18 a [▲] b 18 h [▲] j)

L'érythromycine, la clindamycine et la rifampycine sont actives sur le pneumocoque avec des CMI inférieurs au seuil de sensibilité.

Le chloramphénicol et la vancomycine présentent une bonne activité in vitro.

P. aeruginosa (Tableau XIV, figure16 e 16 g [▲] h)

La gentamicine et la ciprofloxacine ont une activité diminuée. L'amikacine reste très active sur le bacille pyocyanique en inhibant toutes les souches.

H. influenzae (Tableau XV, figure17 c [▲] f)

H. influenzae est un germe naturellement résistant à l'érythromycine.

Le chloramphénicol a une très bonne action avec 97% de souches inhibées et à une CMI 90 basse (1µg / ml). Seules 12% des germes testés sont résistantes à la tétracycline.

3.2. Résultats de la sensibilité en fonction des produits pathologiques :

3.2.1. Sensibilité des souches isolées des urines

3.2.1.1. Sensibilité de *P aeruginosa*

Tableau XVIII : CMI des souches urinaires de *P. aeruginosa*

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50 µg / ml	CMI 90µg / ml
TIC	8	512	512	512
TIM	8	512	512	512
PIP	4	512	32	512
CAZ	0.5	16	3	12
IPM	0.5	4	2	3
GEN	4	512	512	512
AMK	2	16	8	12
CIP	0.25	64	64	64

La ticarcilline a montré une mauvaise activité sur les souches testées. L'association ticarcilline-acide clavulanique n'entraîne pas de modification de la sensibilité.

La pipéracilline, la ceftazidime, et l'imipénèm ont donné de bons taux d'inhibition. Cependant, seul l'imipénèm a donné de faibles CMI.

3.2.1.2. Sensibilité de *E. coli*

L'amoxicilline présente une mauvaise activité sur *E. coli*. L'association amoxicilline-acide clavulanique restaure l'activité de la molécule mais les CMI restent supérieur au seuil de sensibilité. Cette résistance s'accompagne d'une résistance à la pipéracilline et à la ceftazidime.

La céfoxitine et céfotaxime demeurent actives (95% d'inhibition) avec des CMI basses.

Tableau XIX : Résultats des CMI des souches urinaires de *E. coli*

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50 µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	2	512	512	512
AMX / AC	2	32	8	32
MEC	0.032	512	512	512
PIP	0.5	512	512	512
KEF	8	512	48	512
FOX	1	24	3	4
FTX	0.032	16	0.064	4
GEN	0.5	512	2	512
AMK	1.5	8	3	4
TET	4	512	512	512
NAL	2	512	8	512
CIP	0.008	512	0.032	0.094
SXT	0.064	64	64	64

3.2.1.3. Sensibilité de *K. pneumoniae*

Aucune souche testée n'a été sensible à l'amoxicilline, l'association amoxicilline-acide clavulonique restaure l'activité de l'amoxicilline (85% d'inhibition) avec des CMI qui sont élevées. Nous observons en même temps à une résistance à la pipéracilline, au mécillinam, à la cefalotine.

La céfotaxime et la cefoxitine ont montré une bonne activité mais seules les CMI de la céfotaxime sont basses.

Tableau XX : Résultats des CMI des souches urinaires de *K. pneumoniae*

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI $\mu\text{g} / \text{ml}$		CMI 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$	CMI 90 $\mu\text{g} / \text{ml}$
AMX	32	512	512	512
AMX / AC	0.5	32	3	24
MEC	0.25	512	512	512
PIP	1	512	24	512
KEF	2	15	12	512
FOX	0.125	128	3	32
FTX	0.032	512	0.094	8
GEN	0.25	512	1.5	512
AMK	1	32	3	6
TET	4	512	12	512
NAL	2	512	64	512
CIP	0.032	1	0.125	1
SXT	0.064	512	0.38	64

3.2.2. Sensibilité des souches isolées du LCR

3.2.2.1. Sensibilité de *H. influenzae*

L'amoxicilline est très active sur *H. influenzae* avec des CMI basses

Tableau XXI : Résultats des CMI des souches de *H. influenzae* isolées du LCR

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50 µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	0.25	2	0.5	0.75
AMX / AC	0.25	1	0.5	0.5
CHL	0.5	2	1	1
TET	0.25	32	1	16
ERY	2	32	6	8
SXT	0.5	64	6	64

3.2.2.2. Sensibilité de *S. pneumoniae*

Ces souches ne montrent pas de particularités par rapport aux résultats globaux. Le taux de sensibilité à la Pénicilline G est de 24% et la CMI 90 de 1 µg / ml. L'amoxicilline a une très bonne activité, 90% des souches sont inhibées à 0.064g/ml.

Nous notons la baisse de la CMI90 de la céftriaxone qui est inférieure au seuil de sensibilité.

Tableau XXII : Résultats des CMI des souches de *S. pneumoniae* isolées du LCR

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50 µg / ml	Plage des CMI 90 µg / ml
PEN	0.016	2	0.5	1
AMX	0.016	0.125	0.032	0.064
AMX / AC	0.016	0.64	0.016	0.032
KEF	0.064	1	0.19	0.5
CRO	0.016	0.05	0.023	0.125
CHL	1	32	3	8
ERY	0.016	0.25	0.094	0.19
CLI	0.125	0.25	0.19	0.25
RIF	0.032	0.5	0.064	0.19
VAN	2	8	4	6

3.2.3. Sensibilité des souches isolées par hémoculture

3.2.3.1. Sensibilité des souches de *S. aureus*

Tableau XXIII : Résultats des CMI des souches de *S. aureus* isolées par Hémoculture

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50 µg / ml	CMI 90 µg / ml
PEN	2	256	12	256
OXA	0.125	128	1	96
AMX / AC	1.5	32	1.5	24
GEN	0.5	128	0.75	96
TET	64	512	64	512
ERY	0.125	512	0.25	512
CLI	0.064	6	0.125	6
RIF	0.008	0.016	0.016	0.016
FUS	0.125	16	0.25	12
VAN	1	4	2	4
SXT	0.064	64	0.125	64

Aucune des souches testées n'est sensible à l'amoxicilline.

Les souches Méti-R constituent 40% de cette population ce qui est légèrement supérieur à celui obtenu de manière globale.

La CMI 90 de l'association amoxicilline - acide clavulanique est six fois plus élevée que celle de l'ensemble des souches.

3.2.3.2. Sensibilité des souches de *E. coli*

Tableau XXIV : Résultats des CMI des souches de *E. coli* isolées par Hémoculture

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	4	512	512	512
AMX / AC	2	32	6	24
MEC	0.125	512	2	512
PIP	1	512	96	512
KEF	8	512	16	512
FOX	2	8	2	6
FTX	0.032	16	0.047	16
GEN	0.5	512	1.5	512
AMK	2	16	2	12
TET	4	512	6	512
NAL	2	16	6	12
CIP	0.016	0.032	0.023	0.032
SXT	64		64	64

Nous notons des valeurs élevées des CMI pour les β-lactamines testées sauf pour le cefoxitine qui reste très actif (100%) avec des CMI basses (CMI 90 = 6µg / ml).

3.2.3.3. Sensibilité des souches *K. p pneumoniae*

Tableau XXV : Résultats des CMI des souches de *K. pneumoniae* isolées par Hémoculture

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	128	512	512	512
AMX / AC	2	16	6	16
MEC	0.5	512	512	512
PIP	8	512	512	512
KEF	2	512	96	512
FOX	2	8	3	6
FTX	0.032	512	0.047	16
GEN	0.5	512	16	512
AMK	1	8	2	8
NAL	32		32	32
CIP	0.032	0.125	0.047	0.094

3.2.3.4 Sensibilité des souches *H. influenzae*

L'amoxicilline inhibe toutes les souches .

Tableau XXVI : Résultats des CMI des souches de *H. influenzae* isolées par Hémoculture

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	0.5	1	0.75	0.75
AMX / AC	0.25	1	0.75	0.75
CHL	0.25	1	1	1
TET	0.25	0.5	0.38	0.5
ERY	2	6	4	6
SXT	1	64	1.5	64

3.2.4.3. Sensibilité des souches *P. aeruginosa*

Les résultats sont semblables à ceux obtenus pour l'ensemble des souches.

Tableau XXVII : Résultats des CMI des souches de *P.aeruginosa* isolées par Hémoculture

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
TIC	1	512	48	512
TIM	1	512	32	512
PIP	1	16	6	16
IPM	0.5	2	2	2
CAZ	0.25	8	3	6
GEN	4	16	4	16
AMK	1	16	4	12

CIP	0.064	1	0.25	0.75
------------	--------------	----------	-------------	-------------

3.2.4. Sensibilité des souches isolées à partir des pus

3.2.4.1 Sensibilité des souches de *S. aureus*

Comme pour les résultats_globaux, la résistance à la pénicilline est élevée, les souches Méthi-S constituent 94% de la population. L'association amoxicilline acide clavulanique est très active (91%) à CMI basses.

Tableau XXVIII : Résultats des CMI des souches de *S. aureus* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
PEN	0.064	512	24	512
OXA	0.032	16	0.5	4
AMX / AC	0.125	8	1.5	4
GEN	0.125	32	0.75	6
TET	0.25	512	192	512
ERY	0.064	512	0.25	512
CLI	0.032	512	0.38	512
RIF	0.008	512	0.016	0.016
FUS	0.016	512	0.125	0.5
VAN	0.5	512	2	6
SXT	0.064	64	0.125	64

3.2.4.2. Sensibilité des souches de *S. pneumoniae*

Le nombre de souches résistantes à la pénicilline est plus élevé que celui obtenu globalement ; 33% contre 7% de manière globale. L'amoxicilline présente une très bonne activité. La cefalotine présente la meilleur activité parmi les cephalosporines testées (100% d'inhibition avec CMI 90 = 3µg / ml).

Tableau XXIX : Résultats des CMI des souches de *S. pneumoniae* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
PEN	0.5	8	0.75	6
AMX	0.016	1	0.5	0.75
AMX / AC	0.016	0.5	0.25	0.38
KEF	0.125	4	2	3
CRO	0.016	2	1	1.5
CHL	2	8	6	6
ERY	0.064	128	0.19	128
CLI	0.125	512	0.38	512
RIF	0.064	0.5	0.25	0.38
VAN	2	8	4	8

3.2.4.3. Sensibilité des souches de *P. aeruginosa*

Le taux d'inhibition de la ticarcilline est de 67% , l'association de l'acide clavulanique améliore l'activité (78%)mais les CMI restent élevées.

La ceftazidime et la piperacilline restent actives sur les germes et à des CMI basses.

L'imipénème reste très active.

Tableau XXX : Résultats des CMI des souches de *P. aeruginosa* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
TIC	1	512	48	512
TIM	1	512	32	512
PIP	1	16	6	16
CAZ	0.25	8	3	6
GEN	0.5	2	2	2
AMK	4	16	4	16
CIP	0.064	1	0.25	0.75

3.2.4.4. Sensibilité des souches de *E. coli*

La sensibilité à l'amoxicilline (60%) diffère de celle obtenue globalement (13%). L'association amoxicilline acide clavulanique améliore la sensibilité mais les CMI demeurent élevées.

La céfotaxime et la cefoxitine présentent de très bonnes activités avec des CMI basses.

Tableau XXXI : Résultats des CMI des souches de *E. coli* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	4	512	512	512
AMX / AC	4	16	6	12
MEC	0.125	512	0.75	512
PIP	1	512	64	512
KEF	4	512	24	512
FOX	1	16	2	6
FTX	0.032	0.25	0.047	0.125
GEN	0.5	512	1	512
AMK	1	4	2	4
NAL	2	512	12	512
CIP	0.016	512	0.023	512

3.2.4.5. Sensibilité des souches de *K. pneumoniae*

Aucune souche testée n'est sensible à l'amoxicilline. L'association amoxicilline-acide clavulanique et la céfotaxime inhibent toutes les souches avec des CMI basses.

Tableau XXXII : Résultats des CMI des souches de *K. pneumoniae* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	128	512	512	512
AMX / AC	2	8	3	6
MEC	0.5	512	512	512
PIP	4	512	32	512
KEF	2	512	12	512
FOX	2	32	3	16
FTX	0.032	8	0.047	4
GEN	0.25	16	1.5	8
AMK	0.5	128	1.5	32
NAL	8	512	16	512
CIP	0.032	16	0.064	0.5

3.2.4.6. Sensibilité des souches de *Proteus spp.*

Tableau XXXIII : Résultats des CMI des souches de *Proteus sp* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	2	512	3	512
AMX / AC	1	64	1.5	48
MEC	0.5	512	1.5	512
PIP	0.25	8	0.5	8
KEF	4	512	12	512
FOX	2	16	4	12
FTX	0.016	16	0.032	16
GEN	0.032	2	1.5	2
AMK	2	8	4	6
CIP	0.032	0.5	0.094	0.5
SXT	0.25	8	0.38	8

Les 67% des souches sont sensibles à l'amoxicilline mais à des CMI proches du seuil de sensibilité. L'association amoxicilline-acide clavulanique améliore la sensibilité mais les CMI restent élevées. Le mécillinam, la cefalotine et la cefoxitine donnent des taux d'inhibition comprises entre 50 et 67% avec des CMI élevées. La piperacilline a une très bonne activité avec une CMI 90 faible.

3.2.4.7. Sensibilité des souches de *H. influenzae*

Tableau XXXIV : Résultats des CMI des souches de *H. influenzae* isolées de pus

ANTIBIOTIQUES	Plage des CMI µg / ml		CMI 50µg / ml	CMI 90 µg / ml
AMX	0.5	1	0.75	0.75
AMX / AC	0.25	1	0.5	0.75
CHL	0.5	4	0.75	3
TET	0.5	16	0.75	12
ERY	4	8	4	8
SXT	64		64	64

L'amoxicilline conserve une très bonne activité.

IV DISCUSSION

Nous avons déterminé la sensibilité aux antibiotiques de 196 souches bactériennes appartenant à 09 (neuf) espèces par la méthode du E-test .

La recherche de β -lactamase a été effectuée pour certaines souches par la méthode à la céfinase couplée, pour *S. aureus*, à la méthode à l'iodométrie.

Des souches de référence ont été testées en même temps que les souches de notre série pour assurer le contrôle de qualité.

L'analyse des résultats a été effectuée avec le logiciel **WHONET III**.

4.1. La méthode du E-test comparée aux autres méthodes de détermination de la CMI

Plusieurs travaux effectués sur la technique du E-test ont approuvé et confirmé la sensibilité, la facilité et la reproductibilité de la méthode (42, 49, 71).

D'autres auteurs ont comparé les méthodes classiques de dilution et E-test et ont trouvé une bonne corrélation entre ces deux méthodes (5, 67, 70, 71).

Dans l'évaluation de la microméthode d'étude de la sensibilité aux antibiotiques mise au point au laboratoire de bactériologie virologie de L'hôpital A. Le DANTEC, KANE T. K. a comparé les résultats de sa méthode avec ceux du E-test et a obtenu 83% de concordance (43).

4.2. Profil de sensibilité aux β -lactamines

S. aureus :

La résistance à l'oxacilline est de 10%, auquel cas l'antibiotique de choix reste l'oxacilline.

Dans une étude menée à l'H.A.L.D.(78) sur la sensibilité aux antibiotiques en 1996, SY K. R. a retrouvé un taux de *S. aureus* résistant à la méticilline (SAMR) de 32,2% qui est supérieur au notre.

A. FANN, en 1996, dans l'étude de la sensibilité des Staphylocoques (86) les résultats montrent un taux de 75% de Meti-R. Cette discordance avec nos résultats est probablement due à la

différence entre les méthodes utilisées, mais aussi aux différents mécanismes de résistance mis en jeu.

En effet, la résistance de *S. aureus* peut être due soit à des mutations chromosomiques, soit au phénomène de tolérance ou à l'action de β -lactamases codées par des plasmides.

L'expression des différentes modifications génotypiques varierait selon la pression sélective propre à chaque localité.

DOSSO D.(30) a Abidjan et **BEN REJEB (11)** en TUNISIE ont rapporté des taux de SAMR respectifs de 9,09% et 10% qui est proche de celui que nous avons trouvé. Alors que d'autres auteurs ont eu des souches plus résistantes : **ODUGBEMI T** (90,5%. au Nigeria) (**59**) et **FELMINGHAM D.(34,8%) (32)**.

Le taux de sensibilité à la pénicilline que nous avons obtenu est très faible (7%). Ce résultat est en corrélation avec celui de l'étude réalisée au CHU de FANN par **WADE A. (6,25%) (86)** et celle de **SY K. R. (10%) (78)**.

La résistance que nous avons trouvé peut s'expliquer par la sécrétion de pénicillinases. En effet sur 33 souches testées, 20 (soit 61%) sont productrices de β -lactamases. Ce taux élevé d'enzymes a été constaté au Nigeria par **ODUGBEMI T.(59)** (79,8%). La mise en oeuvre de ce mécanisme est confirmée par la bonne activité de l'association amoxicilline- acide clavulanique avec un taux de sensibilité de 91% et une baisse sensible des CMI (CMI 90 = 4 μ g / ml contre 512 pour la pénicilline G). ce taux est confirmé par les résultats de **FALL M. I. (31)** qui en 1992 a trouvé 72% de sensibilité a cette association, et aussi par **DIA B. (80%) (27)**.

S. pneumoniae

Dans notre étude, la sensibilité à la pénicilline G des souches testées est très faible (18%). Les souches à sensibilité intermédiaire constituent 75% des bactéries. Ces résultats montrent la tendance à la résistance à la pénicilline des pneumocoques. En 1996, **SY K. R (78)**. avait trouvé un taux de sensibilité supérieur à 80% et 7,1% de souches résistantes. **BATHILY C. T (6)**. a trouvé 98% de souches sensibles. Ceci montre la dissémination rapide des souches de pneumocoque à sensibilité anormale à la pénicilline. Ce phénomène s'observe actuellement en Europe et aux USA. Une étude multicentrique réalisée en 1996 a rapporté une prévalence moyenne de pneumocoques résistantes à la pénicilline (**PRP**) de 12% en Europe et aux USA (**32**). Cette prévalence varie de <

1% en Allemagne, Italie et en Grande Bretagne, à 3.8% à 40% dans les autres centres avec un pic en Espagne et en France (32).

Ce phénomène est inquiétant vu la place occupée par les pneumocoques parmi les germes isolés dans nos laboratoires (52).

L'amoxicilline a donné un très bon résultat (100%) qui est confirmé par les études de **SY. K. R. (78)**, **BEN REJEB (11)** et **DOSSO M.(30)** L'amoxicilline reste utilisable en thérapeutique.

Parmi les céphalosporines testées, la cefalotine a donné les meilleurs résultats (100%) à faibles CMI. Ce résultat confirme celui de **K. R. SY (78)**, **BEN REJEB (11)** et **DOSSO M. (30)** ont montré cette sensibilité des pneumocoques à l'amoxicilline. La céftriaxone inhibe 85% des souches . Cependant, la valeur des CMI est élevée (1µg / ml). En 1996, 100% des souches testées étaient sensibles à la céftriaxone.

Ceci oblige à une plus grande prudence dans l'utilisation de ces molécules. En effet celle-ci est utilisée en première intention dans le traitement des méningites dans notre structure.

GOLDSTEIN F. W. et al (35) ont trouvé une sensibilité à la céftriaxone supérieure à 80% avec des CMI inférieur à 0,25 µg / ml.

Proteus spp

Nous avons trouvé une sensibilité moyenne à l'amoxicilline (55 %) qui s'améliore avec l'association de l'acide clavulanique (89%) avec une diminution sensible des CMI. La résistance à l'amoxicilline serait donc liée à la production de β-lactamases.

Le résultat du phénotypage a montré un taux de 66,67% de souches sauvages , la phénotype "pénicillinases bas niveau" représente 22,22% , 11,11% des souches sont "céphalosporinases bas niveau".

Une étude menée à **FANN** en 1996 (51) a rapporté un taux de sensibilité de 50% pour l'amoxicilline, taux qui est proche du nôtre.

En 1995 (9) un taux d'inhibition de 44,4% a été rapporté pour l'amoxicilline et de 82,3% pour l'association amoxicilline-acide clavulanique avec une CMI 90 significativement diminuée (24µg / ml contre >256µg / ml pour l'amoxicilline seule).

La sensibilité au méccillinam est faible et doit inquiéter du fait que cette molécule est utilisée dans le traitement des infections urinaires basses et que ce germe est souvent isolé dans les urines.

La pipéracilline est active (80% d'inhibition) mais la CMI 90 est élevée (48 µg / ml).

Cette valeur de la CMI peut s'expliquer par l'hydrolyse des ureïdopénicillines par les pénicillinases constitutives.

L'activité des céphalosporines est variable et toutes ont des CMI élevées. Pour la céfotaxime, 78% des souches sont inhibées à une faible CMI (0,064µg / ml).

L'étude de **FANN (51)** a donné un taux d'inhibition supérieur (94,04%), celle de **DOSSO (30)** (100%), et l'étude de **ODUGBEMI (59)** (66,66%).

E. coli

Nous avons obtenu 13% de souches sensibles à l'amoxicilline. L'association de l'acide clavulanique restaure l'activité de l'amoxicilline avec un taux de sensibilité de 72%, mais les CMI demeurent élevées. Ces résultats montrent que la résistance à l'amoxicilline est liée à la sécrétion d'enzymes. La recherche de β-lactamases et du phénotypage. Quatre vingt quatre pour-cent des souches sont sécrétrices d'enzymes, 26% sont du phénotype pénicillinase haut niveau et 42% sécrètent une pénicillinase et une céphalosporinase.

Une étude menée au laboratoire de bactériologie de **P.H.A.L.D.** en 1996 (**78**) a montré une résistance élevée à l'amoxicilline (65,6%).

A l'hôpital de **FANN (51)** , en 1996, l'association amoxicilline-acide clavulanique s'est montrée peu active sur les souches de *E. coli* testées.

Des études réalisées par la méthode du E-test ont montré :

☺ en **Algérie (65)** 96% de résistance à l'amoxicilline avec une amélioration de la sensibilité par l'association amoxicilline-acide clavulanique (76% de sensibilité). Environ 96,4% des souches sont sécrétrices de β-lactamases.

☺ au **Maroc (9)**, 55% des souches étaient sensibles à l'amoxicilline seule et 66,6% à l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique.

Ces variations sont probablement dues aux différences dans les habitudes de prescription.

Dans notre étude la résistance à l'amoxicilline s'est accompagnée d'une résistance au mécillinam, à la pipéracilline et à la céfalotine.

Les résistances à la pipéracilline et à la céfalotine sont retrouvées dans l'étude menée à **FANN (51)** en 1996, respectivement 30% et 35%.

En Algérie la sensibilité était de 20% et 69% respectivement pour la pipéracilline et pour le mécillinam.

La céfoxitine et la céfotaxime sont très actives respectivement 95 % et 96% de souches inhibées. Ces résultats démontrent que le mécanisme le plus courant de résistance de *E. coli* est la sécrétion d'enzymes. En effet la céfoxitine est un bon marqueur de la résistance par imperméabilité.

Par la méthode du E-test, on a trouvé :

☺ à **Abidjan (28)** et à **Lagos (59)** ; des sensibilités de **100%** pour la céfoxitine et la céfotaxime.

☺ au **Cameroun (44)** des sensibilités de **88,2%** pour la céfoxitine et 100% pour la céfotaxime.

K.pneumoniae

ce sont des germes qui présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines et aux carboxipénicillines mais qui sont sensibles à ces β -lactamines lorsqu'elles sont associées à un inhibiteur de β -lactamases.

Toutes les souches que nous avons testées sont résistantes à l'amoxicilline, l'association amoxicilline-acide clavulanique s'est révélée active sur 84% des souches avec une CMI 90 de 16 μ g / ml.

La recherche de β -lactamases a montré 53% de souches sécrétrices de β -lactamases.

Les phénotypes de résistance rencontrés sont :

Pénicillinases bas niveau	79%
Pénicillinases haut niveau	7%
Céphalosporinases bas niveau	3%
β-lactamases à spectre étendu	4%

Ces résultats montrent que la résistance est liée à production de β -lactamases.

Dans l'étude de **FANN (51)**, l'association amoxicilline-acide clavulanique n'a été active que sur 35,71% des germes étudiées.

En 1991, une étude française (**73**) a trouvé une sensibilité de 65% et 69% (respectivement pour souches initiales et répétitives) pour l'association amoxicilline-acide clavulanique, la sensibilité à l'ampicilline étant nulle.

Dans notre étude les sensibilités au mécillinam, à la pipéracilline et à la cefalotine sont faibles.

La cefoxitine a une très bonne activité mais la CMI 90 est élevée (16 μ g / ml).

En **France**, une étude portant sur l'activité des β -lactamines en fonction de la production de β -lactamases a montré que seules les souches sécrétrices uniquement de SHV-1, SHV (pI =7,1) ou

TEM-2 avaient une CMI 90 inférieure ou égale à 8 μ g / ml. Avec les autres types de β -lactamases les CMI étaient élevées (13).

Ainsi donc la détermination du type d'enzyme sécrétée nous aurait aidé à interpréter nos résultats. Dans tous les cas, la cefotaxime reste l'antibiotique qui a la meilleure activité, avec 94% de souches sensibles et une CMI 90 de 6 μ g / ml.

Ce taux de sensibilité élevé a été décrit dans une étude menée en France de 1989 à 1993 avec des taux de 96% (1989), 98% (1990), 95,5% (1991), 96,5% (1992), 97% (1993) (79).

Dans l'étude française de 1988, les souches sécrétrices de SHV-1, SHV pI 7,1 seules ou associées, de TEM-1, et TEM-2 ont montré une sensibilité à la cefotaxime avec des CMI 90 basses (0.5 μ g / ml) (13). Ceci démontre la nécessité du typage des β -lactamases.

P. aeruginosa

Les Pseudomonas sont les bactéries les plus résistantes à l'heure actuelle. Dans notre étude, les souches de *P. aeruginosa* sont moyennement sensibles à la ticarcilline, activité légèrement améliorée avec l'association de l'acide clavulanique. Cette résistance s'accompagne d'une sensibilité moyenne à la cefotaxime (50%) et d'une bonne activité de l'imipénem (100%).

Le phénotypage et la recherche de β -lactamases ont donné :

53% de souches sauvages

47% de souches du phénotype Pénicillinases bas niveau

20% de souches β -lactamases positives

La résistance de *P. aeruginosa* est donc liée à la sécrétion de β -lactamases et probablement aussi à d'autres mécanismes.

BA M. (4) a trouvé une résistance de 100% à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Dans l'étude de FANN (51), les souches testées ont été toutes résistantes à l'association amoxicilline-acide clavulanique et les phénotypes rencontrés sont : pénicillinases haut niveau (41,67%), céphalosporinases chromosomiques hyperproduites 58,33%.

L'imipénem conserve une très bonne activité (100%) et demeure ainsi le meilleur anti-pseudomonas.

La cefotaxime a perdu son efficacité seules 50% des souches sont sensibles à ce produit. Cette résistance est probablement due à l'activité enzymatique des germes.

Au Maroc (9), les résultats ont montré une sensibilité de 70% au cefotaxime et 100% à l'imipénèm.

En **Côte d'Ivoire (30)**, la fréquence de souches à sensibilité intermédiaire à la cefotaxime est de 62,30% pour un taux de résistance de 23,10% , l'imipénèm inhibant toutes les souches.

Haemophilus influenzae

La sensibilité à l'amoxicilline est très bonne. Toutes les souches testées sont sensibles à L'amoxicilline avec une CMI faible (1 µg / ml). Ceci montre que les aminopénicillines sont toujours utilisable pour le traitement des infection à *H. influenzae*.

Une étude menée à l'**H.A.L.D.** en 1996 (**39**) a montré une sensibilité de 83,33% par la même méthode. En 1996 par la méthode des disque , 71,4% des souches ont été sensibles à l'action de l'amoxicilline (**78**).

Au **Maroc (9)** a obtenu 95% de sensibilité avec une CMI 90 de 1,5µg / ml.

En **Tunisie (11)** 80% de souches inhibées à une CMI 90 de 2µg / ml.

La bonne sensibilité explique le résultat de la recherche de β-lactamases. Une seule souche sur 7 est sécrétrice de β-lactamases. Cependant la surveillance de la sensibilité aux aminopénicillines doit être renforcée pour suivre l'émergence et l'évolution de résistances à ces produits.

4.3. Sensibilité aux autres antibiotiques :

S. aureus

Les 88% des souches testées sont sensibles à la gentamicine. Des auteurs ont rapporté des taux de sensibilité semblables 96% (**86**), 90% (**78**), 88,64% (**28**), 84,6% (**11**). Les résultats obtenus dans ces différents laboratoires sont sensiblement identiques et montrent que la gentamicine est indiquée dans l'antibiothérapie des infections Staphylococciques.

La tétracycline est inefficace sur les staphylocoques. En effet, 73% des souches sont résistantes à cette molécule. Ce taux est proche de celui de **DOSSO** (63,63%) (**30**) et inférieur à celui de **DE SOUZA** (96,04%) (**28**).

Les macrolides et apparentés montre une très bonne activité. L'érythromycine inhibe 78% des souches contre 71% pour la clindamicine. **SY K. R. (78)** avait trouvé un taux de sensibilité de à l'érythromycine de 65%. **DE SOUZA (28)** pour sa part avait obtenu 60,21% de souches sensibles. L'acide fusidique inhibe 88% des souches, activité confirmée par les résultats de **WADE A. (94%) (86)**.

La rifampycine demeure un bon antistaphylococcique, avec, dans notre étude ,98% de souches sensibles, 91,1% dans l'étude de **DE SOUZA (28)** et 95% dans celle de **ODUGBEMI (59)**.

La résistance à la vancomycine est de 7%, chiffre proche de celui de **SY K. R. (11%) (78)**. Dans la littérature, cette molécule demeure active sur l'ensemble des souches.

S. pneumoniae

Les antibiotiques des autres familles ont donné de bons résultats.

L'érythromycine et la clindamycine inhibent 96% des souches, ce qui incite à leur utilisation dans les infections par ce germe. D'autres études ont montré cette bonne activité des macrolides et apparentés, **BEN REJEB** a trouvé des taux de sensibilité de 100% pour ces deux produits **(11)**, **DOSSO** a trouvé des taux de 66,66% et 83,33% respectivement pour L'érythromycine et la clindamycine **(30)**. En 1996, toutes les souches testées à l'hôpital **A. Le DANTEC** étaient sensibles à L'érythromycine **(78)**.

La vancomycine et la rifampycine inhibent toutes les souches de pneumocoque, ce qui constitue une bonne alternative pour le traitement des infections streptococciques. La bonne activité de à la vancomycine à été retrouvé dans la littérature, **SY K. R. (78)** et **DOSSO (30)** ont trouvé une efficacité de 100% de cette molécule.

Proteus spp.

Les souches ont été sensibles aux autres antibiotiques utilisés. La gentamicine s'est montrée plus active que l'amikacine ;respectivement 100% et 89% de souches sensibles. L'étude de **MBOUP (51)** a montré un taux de sensibilité supérieur pour l'amikacine 88.88% de même que celle de Lagos (100% pour l'amikacine et 70% pour la gentamicine) **(59)**.

La ciprofloxacine, dans notre étude comme dans celle de **MBOUP(51)**, inhibe toutes les souches. En France, **SCHEFTEL** a montré une bonne sensibilité des Proteus à la ciprofloxacine **(73)**.

Le co-trimoxazole conserve son activité sur les Proteus. En effet 67% des souches sont inhibées par cette molécule, taux supérieur à celui de **MBOUP** (27,77%) (**51**) et **DOSSO** (40%) (**30**) mais inférieur au taux retrouvé à **Lagos** (100%) (**59**). La sensibilité à cet antibiotique doit être surveillée car celle-ci est très utilisée dans nos structures hospitalières.

E. coli

Une bonne activité des aminosides a été mise en évidence : 88% et 100% de sensibilité respectivement pour la gentamicine et l'amikacine. Cette bonne activité est confirmée par de nombreuses études (**9, 11, 30, 59, 65**).

La ciprofloxacine montre une très bonne activité (90% de souches sensibles). Des études réalisées à l'hôpital **A. Le DANTEC** (**78**) et à **FANN** (**51**) en 1996 ont donné une sensibilité de toutes les souches à la ciprofloxacine.

L'acide nalidixique inhibe 87% des souches, chiffre proche de ceux obtenus par **ODUGBEMI** (89,3%) (**59**), **BEN REJEB** (93,1%) (**11**), **RAHAL** (60%) (**65**) et au **CHNU de COTONOU** (83,9% en 1992) (**2**).

K. pneumoniae

Les aminosides montrent une bonne activité. L'amikacine inhibe 91% des souches, taux proche de ceux de **MBOUP** (**51**) et **SY K. R.** (**78**) (100%), **RAHAL** (95%) (**65**), **BEN BACHIR** (66,66%) (**9**). Ces taux d'inhibition montrent que l'amikacine est toujours utilisable contre *K. pneumoniae*.

La ciprofloxacine inhibe 97% des souches de notre étude ce qui prouve l'efficacité des fluoroquinolones dans notre structure, efficacité confirmée par les études de **MBOUP** (**51**) et **SY K. R** (**78**).

P. aeruginosa

Ce germe s'est montré moyennement sensible à la gentamicine, mais toutes les souches ont été sensibles à l'amikacine. La même sensibilité a été rapportée par **ODUGBEMI** (**59**) et **DOSSO** (**30**). Des taux de sensibilité inférieures ont été trouvés par **RAHAL** (87%) (**65**), **BEN REJEB** (84,6%) (**11**) et au **CHNU de COTONOU** (57,8%) (**2**).

La ciprofloxacine inhibe 61% des souches. Cette activité est confirmée par les résultats obtenus à l'hôpital **A. Le DANTEC** en 1993 (64%) (**4**) et en 1996 (70%) (**78**). Le taux de sensibilité obtenu à **FANN** en 1996 (**51**) est très intéressant (100%) et montre que cette molécule est toujours utilisable contre le bacille pyocyanique. Ailleurs en Afrique les résultats sont variables mais montrent tous une bonne activité de la ciprofloxacine (100% à **Lagos (59)**, 94% à **Alger (65)**, 84,62% à **Abidjan (30)**, 76,9% à **Tunis (11)** .

H. influenzae.

Cette bactérie est naturellement résistante à L'érythromycine. La tétracycline et le chloramphénicol se sont montrés très actifs sur les souches, respectivement 85% et 97% de souches inhibées. La sensibilité à ces molécules offre des possibilités pour le traitement des infections par *H. influenzae*.

Des auteurs ont rapporté de bons taux de sensibilité de *H. influenzae* pour le chloramphénicol : **BEN REJEB** (80%) (**11**), **BEN BACHIR** (100%) (**9**). Une étude multicentrique réalisée en Europe et aux USA à montré que seules 1,4% des souches étaient résistantes au chloramphénicol (**32**). Malgré ces résultats, le chloramphénicol ne devrait être utilisé qu'au cas où elle ne serait que la seule alternative. En effet ce produit présente de graves effets secondaires de type hématologiques.

CONCLUSION

L'apparition et la dissémination des souches bactériennes résistantes à un ou plusieurs antibiotiques est une réalité préoccupante pour le microbiologiste et le clinicien. En effet, l'évolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques entraîne des changements dans l'écologie bactérienne et au niveau des hôpitaux, les bactéries sensibles aux antibiotiques ont disparu, laissant la place à des germes plus résistants qui sont responsables d'infections dites nosocomiales.

Les difficultés matérielles d'isolement, d'identification, et de détermination de la sensibilité aux antibiotiques obligent les cliniciens à prescrire des agents antimicrobiens en l'absence d'antibiogramme.

Pour toutes ces raisons, la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques une activité de routine pour le laboratoire de bactériologie. Le microbiologiste doit ainsi fournir des informations sur l'état de la résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau de chaque structure hospitalière et de chaque localité.

Nous avons pour cela entrepris , au niveau du laboratoire de bactériologie-virologie de l'hôpital A. Le DANTEC, de déterminés la sensibilité à 25 antibiotiques de 196 souches bactériennes appartenant à 9 espèces par la technique du E-test. Celle-ci a été choisie pour sa facilité, sa sensibilité et sa reproductibilité.

Les résultats de cette étude sont les suivants :

↯ Pour *S. aureus* ;

L'action de la pénicilline est très faible. L'oxacilline demeure très active en inhibant 90% des souches et reste ainsi l'antibiotique de choix dans le traitement des infections staphylococciques.

L'association amoxicilline-acide clavulanique constitue aussi un bon choix thérapeutique.

Parmi les autres antibiotiques testés, la rifampycine constitue la meilleur alternative, la gentamicine, l'érythromycine, la clindamicine et l'acide fusidique ayant aussi donné de bons résultats.

Un taux non négligeable de souches résistantes à la vancomycine a été noté et oblige à une surveillance de la sensibilité à cette molécule.

↯ Pour *S. pneumoniae* ;

Une émergence de souches de pneumocoques résistantes à la pénicilline a été noté (7%). D'autres β -lactamines seront donc utilisées dans le traitement des infections streptococciques notamment l'amoxicilline et les céphalosporines qui ont donné de bons résultats.

Les autres antibiotiques testés restent efficaces surtout la vancomycine et la rifampycine.

↯ Pour *H. influenzae* ;

Ce germe souvent rencontré chez les enfants reste très sensible à l'amoxicilline. La céftriaxone, très utilisée en pédiatrie constitue un des meilleurs choix. D'autres molécules telles le chloramphénicol et la tétracycline ont donné de bons résultats. Cependant leur toxicité limite leur utilisation.

↯ Pour les entérobactéries ;

L'activité de l'amoxicilline est faible dans l'ensemble. L'association de l'inhibiteur de β -lactamases qu'est l'acide clavulanique restaure l'activité de la molécule qui donne ainsi de bons résultats sur les entérobactéries.

La pipéracilline, le mércillinam et la céfalotine ont montré une faible activité sur les germes.

Les céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération, céfoxitine et céfotaxime, conservent leur efficacité sur les Klebsielles, Proteus et sur *E. coli*.

Parmi les autres antibiotiques, les aminosides, notamment l'amikacine, ont montrés la plus grande activité. La ciprofloxacine a donné un bon taux d'inhibition et pourra ainsi être utilisée dans le traitement des infections par les entérobactéries.

L'acide nalidixique reste actif sur *E. coli*.

↯ Pour *P. aeruginosa* ;

La ticarcilline seule ou en association avec l'acide clavulanique est peu actif sur le bacille pyocyanique. Parmi les β -lactamines, la pipéracilline, la céftazidime et l'imipénèm ont donné les meilleurs résultats, cette dernière ayant inhibé toutes les souches est la plus indiquée dans le traitement des infections à *P. aeruginosa*.

Des aminosides, l'amikacine est la plus active et offre donc une alternative en antibiothérapie.

L'ensemble de ces résultats montre l'intérêt du laboratoire dans la thérapeutique anti-infectieuse.

L'extrême plasticité de la résistance aux antibiotiques oblige le microbiologiste à détecter l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques et à suivre l'évolution de la sensibilité aux agents antibactériens.

Il faudra pour cela doter les laboratoires de microbiologie de moyens leur permettant de faire face à ces obligations.

Ce travail doit s'accompagner de mesures visant à diminuer l'incidence de la résistance aux antibiotiques. Il s'agira :

- ★ de lutter contre la vente illicite des médicaments en général, des antibiotiques en particulier,

- ★ de promouvoir une politique d'information de la population afin d'éviter la consommation abusive des antibiotiques,

- ★ de privilégier au niveau des structures hospitalières les mesures d'hygiène au détriment des traitements curatifs susceptibles de sélectionner des bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques.

Enfin, s'agissant de la prescription, celle-ci devra être justifiée.

1 - AMYES SGB.

The success of plasmid-encoded resistance genes in clinical bacteria. An examination of plasmid mediated ampicillin and trimethoprim resistances genes and their resistances mechanisms.

J. Med. Microbio.; 1989, 28: 73-83.

2 - ANAGONOU S. Y., ESLAHIPAZIRE J., MAKOUTOBE M., JOSSE R., MASSOUGBODJI A., CADELER B. C.

Sensibilité aux antibiotiques de bacilles à gram négatif isolés d'infections urinaires au CHNU de COTONOU (BENIN) de Mars à decembre 1992.

Bull. Soc. Path. Ex., 87, 1994, 223-225.

3 - ARTHUR M. et al

Technique d'étude du support génétique de la résistance aux antibiotiques.

L'antibiogramme mpc -videom, 1ère édition, PARIS, 1985 : 251-305.

4 - BA M.

Etude des marqueurs épidémiologiques de souches de Pseudomonas aeruginosa isolées à DAKAR

Thèse Pharm., DAKAR, 1993, n°79.

5 - BAQUERO F., CANTON R., MARTINEZ-BELTRAN J., BOLSTRÖM A.

The E-test an epidemiological tool.

E-test reference N° 82. Diagn. Microbiol. Infctet. Dis., 1992 ; 95 ; 483-487

6 - BATHILY C. T.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques de différentes souches de pneumocoques isolées à DAKAR.

Thèse Pharm., DAKAR, 1995, n°30.

7 - BAUERNFEIND A.

Classification of Bêta-lactamases.

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

8 - BAUERNFEIND A, CHONG Y, SCHWEIGHART S.

Extended broad spectrum Beta-lactamase in klebsiella pneumonial including resistance to cephamycins.

Infect., 1989,17: 316-321.

9 - BEN BACHIR M.

Surveillance de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques de différents germes isolés de prélèvements trachéo-bronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures, urines.

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 18 -31.

10 - BENNAMI M.

Intérêts des Inhibiteurs de Bêta-lactamases en antibiothérapie.

Thèse méd ,DAKAR,1989, n° 4.

11 - BEN REJEB S., KAMOUN A.

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

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 24-31

12 - BERCHE P., GAILLART J-I., SIMONET M. :

Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance bactérienne. In Bactériologie, Bactéries des infections humaines.

Med. Science Flammarion, PARIS, 5ème édition, 1989; 575-592.

13 - BERCION R., MEYRAN M., LABIA R., THABAUT A.

Activité comparée de 15 bêta-lactamines sur 590 souches de *K. pneumoniae* en fonction de la production de bêta-lactamases.

Path. Biol., 1991, 39, n°5, 353 - 360.

14 - BERGER-BACHI B.

Genetics of methicillin resistance in *staphylococcus aureus*.

J. Antimicrob. Chemother.; 1989, 23: 671-680

15 - BINGEN E.

Mécanismes d'action des bêta-lactamines. In □ Mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule □

Roussel, Nice, 1986, 7 -30..

16 - BINGEN E.

Différentes classifications des céphalosporines. In □ Mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule □

Roussel, Nice, 1986, 31 - 46.

17 - BINGEN E.

Classification structurale des bêta-lactamines et relation structure activité. In □ Mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule □

Roussel, Nice, 1986, 47 - 62.

18 - BRIAN LE.

General mechanisms of resistance to antibiotics.

Antimicrob. Chemother., 1988, 22: suppl-A

19 - BRYAN L. E. :

Two forms of antimicrobial resistance : bacterial persistence and function resistance.

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

20 - BUSH K.:

Characterization of Beta-lactamases.

Antimicrob. Agents. Chemother., 1989, 33 : 259-263.

21 - CHABBERT Y.A.

Actualités pharmacologiques, 26ème série. Edition de la Tourelle 1972, p 32.

22- CHABBERT Y.A.

L'antibiogramme - sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques.

Collection Technique de base, édition de la Tourelle, Saint-Mandé, 1963.

23 - CHOPRA I.:

Mechanisms of resistance to antibiotics and other chemotherapeutic agents

J. Appl. Bacteriol., 1988, Symposium Suppl : 149-166.

24 - COLLATZ E. GUTMANN L., WILLIAMSON R., ACAR J. F.

Développement of resistance to third generation cephalosporins.

J. Antimicrob. Chemother., 1984 , 14, b, 13-21.

25 - CULLMANN W.

L'induction non spécifique : définition et conséquences.

Med. Mal. Infect., 1988, H. série, 24-

26 - CURTIS N. A. C., EISENSTADT R. L.,TURNER K. A.,WHITE A. J.

Porin mediated cephalosporin resistance in Escherichia coli K-12.

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

27 - DIA B.

Résistance des Staphylocoques et des Stréptocoques aux antibiotiques.

Thèse Pharm., Dakar, 1993, N°61.

28 - DE SOUZA C., GBEASSOR M., KOUMAGLO K.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à LOME.

Médecine tropicale, vol. 48, N°3, Juillet - Septembre 1988.

29 - DOERN G. V.

Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of

Haemophilus influenzae : result of a 1992 -1993 Western Europe and USA collaborative surveillance study.

J. Antimicrob. Chemother., 1996, 38, Suppl. A : 59 - 69.

30 - DOSSO M.

Etude de la sensibilité in-vitro aux antibiotiques de différents isolats bactériens à Abidjan : résultats à propos de 90 souches.

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 32-38.

31 - FALL M. I.

Comportement vis-à-vis des antibiotiques de 94 souches de *Staphylococcus aureus* isolées en situation pathogène au CHU de FANN, DAKAR.

Thèse Pharm., Dakar, 1992, N°83.

32 - FERMINGHAM et al

A multicenter collaborative study of antimicrobial susceptibility of community - acquired, lower respiratory tract pathogens 1992 - 1993 : the Alexander project.

J. Antimicrob. Chemother., 1996, Suppl.A., 1 - 57.

33 - FONTANA R.

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

J. Antimicrob. Chemother., 1985, 412-415.

34- GODFREY A. J., HATLELID L. H., BRYAN L. E. -

correlation between lipopolysaccharide structure and permeability resistance in beta-lactam resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1984, 26, 181-186.

35 - GOLDSTEIN F. W., GUTMANN L., WILLIAMSON R. et al

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

Ann. Microbiol., 1983, 134, 329-337.

36 - GUTMANN L., WILLIAMSON R., MOREAU N. et al

Cross resistance to nalidixic acid, trimethoprim, and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia*.

J. Infect. Dis., 1985, 151, 501-507.

37 - HARTMAN B. J., TOMASZ A.

Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1986, 29, 85-92.

38 - HAYES M. V., WARD J. B.

The role of penicillin binding proteins in antibacterial activity of beta-lactam antibiotics.

In « antibiotics in Laboratory medicine », Ed. V. Lorian, 1985, 722-756.

39 - HERODIAS N. D. A.

Détermination de la sensibilité de souches d'*Haemophilus influenzae* par E-test et étude des variations de la sensibilité de l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Thèse Pharm., DAKAR, 1996, N°56.

40 - JACOBY G. A. et al.

Properties of plasmid responsible for extended spectrum beta lactamase production

Antimicrob. Agents. Chemother., 1991, 35, 164-169.

41 - JAFFE A., CHABBERT Y. A., SEMONIN O.

Role of porine proteins OmpF and OmpC in the permeation of beta-lactam

Antimicrob. Agents Chemother., 1982, 22, 942-948.

42 - JORGENSEN J. H., HOWEL A. W., MAHER L. A.

Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using E-test.

J. Clin. Microbiol. 1991 ; 29(1) : 109-114

43 - KANE T. K.

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

Thèse Pharm, DAKAR, 1996,N°69.

44 - KOULLA-SHIRO S., ABONG-BWEMDA T.

Surveillance de la sensibilité in vitro aux antibiotiques de différents pathogènes isolés de prélèvements trachéo- bronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures et urines.

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 55 - 65.

45 - LABIA R.

Bêta-lactamases inductibles et constitutives.

Med. Mal.Infect. 1988, Hors série: 11-34.

46 - LE MINOR L., VERON N.

Bactériologie médicale, 2ème édition Flammarion, Médecine Sciences, PARIS, 1989; 333-381, 773-828.

47 - LINDBREG F., NORMARKS S.

Contribution of chromosomal β -lactamase to β -lactam resistance in Enterobacteria.

Rev. Infect. Dis., 1986, 8suppl. 3, 292-304.

48 - LIVERMORE D. M.

Pouvoir inducteur des beta-lactamines : description et conséquences, mécanisme derésistance de Pseudomonas aeruginosa.

Med. Mal. Infect., 1988, H. série, 46-52.

49 - MACIAS E., MASON E. O. JR. et al

Comparison of e-test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibility of penicillin-resistant strains of Streptococcus pneumoniae .

J., Clin. Microbiol. 1994, 32 (2) : 430-432.

50 - MALOUIN F., BRYAN L. E.

Modification of penicillin binding proteins as mechanisms of betalactam resistance.

Antimicrob. Agents Chemother., 1986, 30, 1-5.

51 - MBOUP E. H. M.

Sensibilité des bacilles à gram négatif au CHU de FANN, DAKAR.

Thèse Pharm., DAKAR, 1996, n°75.

52 - MBOUP S., PRINCE - DAVID M. et DENIS F.

Place des Streptocoques et pneumocoques dans les isolements d'un laboratoire hospitalier en zone tropicale.

Revue de l'institut Pasteur de Lyon, 1982, t. 15, n° 3 (pp. 335 à 342)

53 - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS

(NCCLS)

Approved standard M2-A4 : Performances standards for antimicrobial susceptibility tests (Normes de performances des tests de sensibilité antimicrobienne).

4th ed. Villanova, PA :NCCLS ; 1990.

54 - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS

(NCCLS)

Approved standard M7-A2 : Standard methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (Méthodes standads de tests de la sensibilité antimicrobienne en dilution pour les bactéries soumises à une croissance aérobie).

4th ed. Villanova, PA : NCCLS ; 1990.

55 - NDAO S. K.

Mise au point d'une microméthode d'identification biochimique des Staphylocoques.

Thèse Pharm., DAKAR, 1996, n° 44.

56 - NDIR I.

Mise au point d'une microméthode d'identification des Entérobactéries.

Thèse Pharm., DAKAR , 1996, N°.....

57 -- NIKAIDO H.,VAARA M.

Molecular basis of bacterial outer membrane permeability.

Microbiol. Rev., 1985, 49, 1-3.

58 - O'BRIEN T. F. , STELLING J. M.

World Health Organisation Project for Microbiology Laboratory : 1994.

59- ODUGBEMI T., ANIMASHAUN T., KESAH K., ODUYEBO Y.

Une étude de la sensibilité antimicrobienne in vitro d'isolats bactériens cliniques à Lagos, au Nigeria.

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 39 - 54

60 - PECHERE J. C.

Les spécificités de l'action antibactérienne des 7-méthoxyiminocephemes zwitterioniques (« céphalosporines de 4^{ème} génération »).

Path. Biol., 1996, 44, n°2, 99-105.

61 - PHILLIPON A, PAUL G, NEVOT P:

Bêta-lactamases incidences et intérêt clinique.

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

62 - PHILLIPON A,PAUL G,NEVOT P.

Resistance plasmidique aux céphalosporines de 3ème génération.

Press. Méd., 1988, 17: 1883-1889.

63 - PIDDOCK LJV., WISE R:

Mechanisms of resistance to quinolones and clinical perspectives.

J. Antimicrob. Chemother., 1989, 23: 475-483.

64 - PIDDOCK L. J. V., WISE R.

Newer mechanisms of resistance to betalactam antibiotics in gram negative bacteria.

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

65 - RAHAL K.

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées de prélèvements divers : résultats à propos de 111 isolats.

Médecine Digest, 1995, suppl. 4, 8-17.

66 - REINER R.

Antibiotics : an introduction, édition «Roche», sc service, Basle, 1982.

67 - RENIER J. L., PANGON B., BRAY P., GHNASSIA J. C., ALLOUCH P. V.

Use of E-test to detect extended spectrum β -lactamase .

E-test reference N°94.

68 - RICHMOND M.H ET SYKES R.B. in ROSE A.H. ET TEMPEST D.W. (ed) :

Advances in microbial physiology. Academic press, 1973, 9 : 31-88.

69 - ROLINSON G. N.

Betalactamase induction and resistance to betalactam antibiotics.

J. Antimicrob. Chemother., 1989, 23 : 1-5.

70 - SANCHEZ M. L., BARRET S. M., RONALD N. J.,

The E-test applied to susceptibility tests of gonococci, multiply-resistant enterococci and Enterobacteriaceae producing potent β -lactamases. E-test reference N°77.

Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1992 ;15 :459-463.

71 - SANCHEZ M. L., RONALD N. L. J.

Application of E-test technology ; Drug susceptibility testing and epidemiology.

E-test reference N°85. Spec. Microbiol. Antiinfect. Research center. 1992 ;

1(2) : 1-3.

72- SANDERS C. C., SANDER Jr. W. E., GOERING R V., WERNER V.-

Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, beta-lactams, and aminoglycosides with special reference to cross resistance between unrelated drug classes.

Antimicrob. Agents Chemother., 1984, 26, 797-801.

73 - SCHEFTEL J. M., WEBER M. et le groupe français □ USI □

résistance à 16 antibiotiques de 3876 bacilles à gram négatif aerobies isolées dans 39 centres de soins intensifs en France (1991).

Med. Mal. Infect., 1994 ; 24 : 255 - 62.

74 - SIROT J.

« Résistance enzymatique des bacilles à gram négatif aux céphalosporines de 3ème génération ».

In Méd. Mal. Infect., 1989, Hors série. Octobre : 24 - 30.

75 - SOUGAKOFF W. et al.

The TEM-3 betalactamase, which hydrlizes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two aminoacid substitutions.

FEMS Microbiol. Lett., 1988, 56, 343-348.

76- SPRATT B. G.

Penicillin binding proteins and the future of betalactam antibiotics Escherichia coli, Proteus mirabilis and Enterobacter cloacae.

Antimicrob. Agents Chemother., 1982, 22, 585-592.

77 - SPRATT B. G.-

penicillin binding Proteins and the future of beta-lactam antibiotics.

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

78 - SY K. R.

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Thèse Pharm., DAKAR, 1996,n°55

79 - THABAUT A., AVRIL J.- L., BEBEAR C, BERGOGNE E. et al.

Evolution de la sensibilité des bacilles à gram négatif à la ceftazidime et à trois autres bêta-lactamines en milieu hospitalier de 1989 à 1993.

Med. Mal. Infect., 1995 ; 25, Spécial :6 -19.

80 -THABAUT A. , MEYRAN M.

Nouvelles bêta-lactamines : Essai de classification, relation structure - activité.

Tempo. Med., 1981, 78 : 9 -53.

81 - THEN R. L. et al

Ways to overcome cephalosporinase-medited betalactam resistance in Enterobacter cloacae.

Chemiotherapia, 1985, IV, 83-89.

82 - TRIAS J., DUFRESNE J., LEVESQUE R. C., NIKAIDO H., :

Decreased outer membrane permeability in imipenem resistance mutants of *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1989, 33 :1201-1206.

83- TRIAS J., NIKAIDO H. :

Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrob. Agents Chemother., 1990, 34 : 52-57.

84 - UNASYN

Susceptibility testing : Essai de classification, relation structure activité.

Tempo. Med., 1981, 78 : 9-53.

85 - VARON E., GUTMANN L.

Bases moléculaires de la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines.

In C Carbon., C. Chastang, J. M. Deases «Infection a pneumocoque de sensibilité diminuée au bêta-lactamines».

Paris, Spriger - Verlag, 1993 : 15 - 24

86 - WADE A.

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

Thèse Pharm., DAKAR, 1996, n°81

87 - WILLIAMSON R.

Resistance of *Clotridium perfringens* to beta-lactam-antibiotics mediated by a decreased affinity of a single essential penicillin binding protein.

J. Gen. Microbiol., 1983, 129, 2339-2342.

Annexe I

LISTE DES ANTIBIOTIQUES A TESTER SELON LE GERM ET LEURS CONCENTRATIONS CRITIQUES (µg /ml)

S. aureus

ANTIBIOTIQUES	Abréviation	Valeurs critiques
Pénicilline G	PEN	S<0.125 R>0.25
Oxacilline	OXA	S<2 R>4
Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	S<4 R>8
Gentamicine	GEN	S<4 R>16
Tétracycline	TET	S<4 R>16
Erythromycine	ERY	S<0.5 R>8
Clindamycine	CLI	S<0.5 R>4
Rifampicine	RIF	S<1 R>4
Acidefusidique	FUS	S<2 R>16
Vancomycine	VAN	S<4 R>32
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	SXT	S<2 R>4

Entérobactéries

ANTIBIOTIQUES	Abréviation	Valeurs critiques
Amoxicilline	AMX	S<4 R>16
Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	S<8 R>32
mécillinam	MEC	S<2 R>8
Pipéracilline	PIP	S<16 R>128
Céfalotine	KEF	S<8 R>32
Cefoxitine	FOX	S<8 R>32
Céfotaxime	FTX	S<8 R>64
Gentamicine	GEN	S<4 R>16
Amikacine	AMK	S<16 R>64
Ciprofloxacine	CIP	S<1 R>4
Tétracycline	TET	S<4 R>16
Acide Nalidixique	NAL	S<16 R>32
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	SXT	S<2 R>4

S. pneumoniae

ANTIBIOTIQUES	Abréviation	Valeurs critiques
Pénicilline G	PEN	S<0.062 R>2
Amoxicilline	AMX	S<4 R>16
Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	S<0.125 R>4
Céfalotine	KEF	S<8 R>32
Ceftriaxone		S<0.25 R>2
Chloramphénicol	CHL	S<4 R>16
Erithromycine	ERY	S<0.5 R>4
Clindamycine	CLI	S<0.5 R>4
Rifampicine	RIF	S<1 R>4
Vancomycine	VAN	S<4 R>8

Pseudomonas aeruginosa

ANTIBIOTIQUES	Abréviation	Valeurs critiques
Ticarcilline	TIC	S<64 R>128
Ticarcilline + Acide Clavulanique	TIM	S<64 R>128
Pipéracilline	PIP	S<64 R>128
Ceftazidime	CAZ	S<8 R>32
Imipénème	IPM	S<4 R>16
Gentamycine	GEN	S<4 R>16
Amikacine	AMK	S<16 R>64
Ciprofloxacine	CIP	S<1 R>4

Haemophilus influenzae

ANTIBIOTIQUES	Abréviation	Valeurs critiques
Amoxicilline	AMX	S<4 R>16
Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	S<4 R>8
Chloramphénicol	CHL	S<2 R>8
Tétracycline	TET	S<2 R>8
Erythromycine	ERY	S<0.5 R>8
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	SXT	S<0.5 R>4

Annexe II

CONDITIONS D'INCUBATION DES GERMES BACTERIENS

Espèce	Milieu	Température et durée d'incubation	Atmosphère d'incubation
Entérobactéries et P. aeruginosa	Müller-Hinton	35 - 37 °C 24 H.	ambient
S. aureus	Müller-Hinton	30°C 24 H	ambient
	Müller-Hinton + 5% Nacl	35 - 37 °C 24 H	ambient
S. pneumoniae et H. influenzae	GSC + polyvitex	35 - 37 °C 18 - 24 H	5% CO2