

INTRODUCTION

Les dernières années ont connu de la part des cliniciens et des chercheurs, un regain d'intérêt pour l'utilisation des macrolides dans le traitement des infections du tractus respiratoire. Cette résurgence suit une période au cours de laquelle les bêtalactamines ont été principalement utilisées pour traiter ces infections fréquentes.

Dans les infections sévères et surtout chez les patients aux moyens de défense diminués, une antibiothérapie bactéricide et prolongée est nécessaire. Le dosage des antibiotiques dans le sérum ou autres liquides biologiques est parfois nécessaire, à la fois pour vérifier l'efficacité du traitement (taux tissulaire et pulmonaire suffisants) et pour prévenir les effets toxiques dus à l'accumulation du produit. Le plus souvent, ces tests sont réalisés lors de la prescription d'antibiotiques pour lesquels la marge entre le taux thérapeutique et le taux toxique est étroite (aminosides) ou bien chez des patients insuffisants rénaux pour lesquels on risque une accumulation d'un antibiotique normalement éliminé par voie rénale.

La condition indispensable pour qu'un antibiotique soit actif *in vivo* est qu'il parvienne au foyer infectieux à une concentration efficace, cela signifie que cette concentration doit être supérieure à la CMI de la bactérie isolée.

C'est pourquoi les effets de cette thérapeutique sont alors contrôlés régulièrement, cliniquement bien sûr, mais aussi au laboratoire : on vérifie *in vitro* que les concentrations atteintes *in vivo*, d'une part, sont suffisantes pour être efficaces et d'autre part, sont inférieures aux taux potentiellement toxiques. C'est l'objet de notre recherche, avec le dosage par la méthode microbiologique de diffusion sur gélose, de quelques antibiotiques utilisés en thérapeutique dans les infections respiratoires basses communautaires ; et la détermination de leur index ou quotient inhibiteur.

1^{ERE} PARTIE : GENERALITES

I - INDICATIONS DU DOSAGE [15, 29, 48]

I.1- PREVENTION DE L'INEFFICACITE D'UN TRAITEMENT

Le taux sérique doit être bien supérieur à la CMI du germe en cause. La demi-vie de l'antibiotique doit être surveillée, dans certains cas :

- L'élimination l'antibiotique peut être rapide par exemple chez les brûlés.
- D'autres traitements interfèrent parfois avec l'action antimicrobienne (inactivation des aminosides par l'héparine).

I.2- EXPLICATION D'UN ECHEC THERAPEUTIQUE

Cet échec peut être dû à différentes causes :

- administration non faite,
- posologie donnée trop faible,
- malade en diurèse forcée.

I.3- PREVENTION D'UNE TOXICITE

Elle est envisagée dans différents cas :

- lors d'un traitement avec des antibiotiques ayant un mauvais index thérapeutique tels les aminosides, la vancomycine, le chloramphénicol dont les concentrations efficaces sont proches des concentrations toxiques.
- lors d'un traitement chez des sujets à risques : le plus fréquent est l'insuffisant rénal, mais il faut aussi citer le prématuré et l'insuffisant hépatique. Le dosage d'antibiotiques permet aussi d'éviter les concentrations toxiques et de déterminer la dose de maintenance.

I.4- CAS PARTICULIERS

Les dosages antibiotiques sont très utiles :

- lorsque les antibiotiques sont donnés à la fois par voie locale et par voie générale ; il s'ensuit une résorption qui peut entraîner des surdosages, c'est le cas des lavages pleuraux, vésicaux etc ;
- lorsque l'antibiothérapie est à surveiller, notamment au cours des hémodialyses, des circulations extracorporelles en chirurgie cardiaque et des exsanguino-transfusions.

II - EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES COMMUNAUTAIRES [41].

Les infections respiratoires représentent 72% des cas de pathologies infectieuses traités, 26% d'entre elles sont des infections respiratoires basses (IRB) composées de bronchites aiguës de l'adulte sain et de pneumonies.

II.1 – DÉFINITIONS [1, 41]

- La pneumonie est une infection du parenchyme pulmonaire d'évolution aiguë. Elle est dite communautaire si elle est acquise en milieu extrahospitalier ou si à l'hôpital, elle survient au cours des 48 premières heures du séjour.
- La bronchite aiguë (BA) est une inflammation aiguë des bronches et des bronchioles chez un sujet sain.

II.2 – EPIDÉMIOLOGIE DES PNEUMONIES COMMUNAUTAIRES

[1, 3, 11, 14, 24, 28, 34, 50].

- Les Pneumonies Communautaires (PC) représentent moins de 10% des IRB et restent la principale cause des décès d'origine infectieuse, et la cinquième cause de décès dans les pays développés.

Aux Etats-Unis, près de 4 millions de PC sont recensés chaque année et sont hospitalisés seulement dans 23% des cas. Dans une série française, 13% des patients ont été hospitalisé.

- Parmi les germes identifiés, cinq d'entre eux sont à l'origine de 80 à 90% de pneumonies communautaires :

Streptococcus pneumoniae, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila* et le virus grippal.

Staphylococcus aureus et les Bacilles à Gram Négatifs (BGN) représentent moins de 10% des germes retrouvés. On distingue :

- Les pneumopathies du sujet jeune.

- Les pneumopathies de l'adulte dues le plus souvent au pneumocoque et surviennent classiquement chez des personnes en bon état général mais aussi chez des personnes fragilisées (alcoolotabagisme, âge élevé, bronchopathie sous-jacente, infection virale respiratoire).

- Les pneumopathies du sujet âgé qui peuvent entraîner une mortalité importante du fait de leur spontanéité.

- Les pneumopathies de l'immuno-déprimé, peuvent être dues en plus des bactéries citées ci-dessus à des Mycobactéries, à *Nocardia*, à des champignons (*Candida*) à des protozoaires (*Toxoplasma gondii*) ou à des virus (*Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus*).

- Les pneumopathies graves qui se présentent sous une forme de broncho-pneumonie, nécessitant un transfert en réanimation.

II.3 – EPIDÉMIOLOGIE DES BRONCHITES AIGUËS (BA) [1, 7, 12, 13, 27].

Dans les pays industrialisés, l'incidence annuelle est évaluée entre 2 et 18% ; 65 à 90% des patients ayant une bronchite aiguë reçoivent des antibiotiques.

En France, le chiffre de 10 millions de bronchites aiguës par année est souvent avancé, avec une incidence de 16 à 17% par an, dont 70 à 90% reçoivent une antibiothérapie. Cependant 50 à 90% des BA du sujet sain ont une étiologie virale, et dans ce cas, l'évolution spontanée est pratiquement toujours favorable.

Les virus en cause sont : *Virus influenzae*, *Adénovirus*, *virus respiratoire syncytial* (V.R.S), *myxovirus*, *rhinovirus*.

Les seules bactéries impliquées sont *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamidia pneumoniae* et *Bordetella pertussis*

III - ANTIBIOTHERAPIE DANS LES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES

III.1 - ANTIBIOTHÉRAPIE DANS LES PNEUMONIES COMMUNAUTAIRES [1, 3, 11, 15, 19, 21, 23, 31, 39, 40, 43, 50].

Une antibiothérapie ne doit être considérée que chez des patients pour lesquels il existe une présomption argumentée d'infection bactérienne risquant de ne pas évoluer spontanément vers la guérison.

Trois consensus thérapeutiques ont été récemment publiés l'un aux Etats-Unis, les deux autres en Europe, en Grande-Bretagne et en France. Ces consensus avaient 3 objectifs communs :

- Privilégier la couverture de *Streptococcus pneumoniae* devant une pneumopathie alvéolaire.
- Elargir d'emblée le spectre de l'Antibiothérapie en cas de gravité symptomatique.
- Couvrir les lacunes de spectre d'un traitement de première intention en cas d'échec clinique, par un autre antibiotique substitué ou associé de spectre complémentaire.

- Le consensus de L'American Thoracic Society a recommandé un macrolide ou une tétracycline quand il n'y a pas de co-morbidité et quand l'âge est inférieur ou égal à 60 ans. Chez le patient plus âgé ou qui présente une co-morbidité une céphalosporine de deuxième génération a été recommandée ou le cotrimoxazole ou une bêta-lactamine couplée à un inhibiteur de β -lactamase, ceci en association éventuelle avec de l'érythromycine ou un autre macrolide. Cette stratégie suppose qu'aux USA le niveau de résistance des pneumocoques aux macrolides et aux tétracyclines reste faible, ce qui n'est pas toujours le cas.

- La société britannique a recommandé, en l'absence de symptôme prédictif d'une étiologie non pneumococcique, une aminopénicilline

(amoxicilline 500mg x3/j per os ou ampicilline 500mg x 4/j en intraveineux (IV)) ou une benzylpénicilline avec pour alternative, chez les patients allergiques à la pénicilline, l'érythromycine ou une céphalosporine injectable de deuxième génération (comme le céfuroxime) ou de III^e génération (céfotaxime, ceftriaxone). Le niveau de résistance du pneumocoque en Grande-Bretagne demeure faible autorisant une posologie relativement faible d'Aminopénicilline en première intention.

- Le consensus français a tenu compte non seulement du terrain et de la sévérité initiale, mais aussi du type de présentation radioclinique :

- Chez l'adulte sain, l'Amoxicilline, à raison de 1g x 3/j a été recommandée ou en alternative, un macrolide.

- Chez un sujet à risque, le choix préconisé est l'association Aminopénicilline/inhibiteur de β -lactamase ou une Céphalosporine orale de II^e ou de III^e génération. Mais l'Amoxicilline à doses majorées ou la Céftriaxone peuvent être aussi recommandées s'il existe une présomption de pneumocoque de sensibilité diminuée à la Pénicilline (PSDP). Le risque d'une infection à *Legionella pneumophila* peut inciter à associer un Macrolide ou une Fluoroquinolone d'emblée ou en cas d'échec du traitement de 1^e intention.

- Chez un sujet hospitalisé avec les signes de gravité un Antibiotique à large spectre par voie injectable et/ou une association d'Antibiotiques sont les plus conseillés. La durée du traitement varie de 7 à 21 jours selon le type de pneumonies.

III.2 - ANTIBIOTHÉRAPIE DANS LES BRONCHITES AIGUËS [1, 20, 46].

L'abstention de toute prescription antibiotique est la règle en cas de bronchite aiguë de l'adulte sain.

Les recommandations de la conférence du consensus de Lille proposent l'utilisation d'antibiotiques, seulement en cas d'association des 3 éléments suivants :

- Tabagisme chronique sous-jacent.
- Toux persistante et expectorations demeurant purulentes au-delà du 7^e jour.
- Présence de râles bronchiques diffus à l'auscultation.

Les antibiotiques préconisés dans les situations précisées ci-dessus devraient être les macrolides ou les cyclines, actifs sur *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* et *Bordetella pertussis*. L'implication d'autres pathogènes comme agent de surinfection tels le pneumocoque ou *Haemophilus influenzae* explique l'utilisation éventuelle d'aminopénicilline ou de céphalosporine de 1^{ère} génération. La durée de traitement proposée est de 5 à 8 jours.

IV - NOTIONS DE PHARMACOCINETIQUE ET DE PHARMACODYNAMIE

IV.1 – NOTIONS DE PHARMACOCINETIQUE [2, 8, 16, 30, 36, 49].

La pharmacocinétique conditionne l'accès de l'antibiotique au siège de l'infection.

IV.1.1 – Mode d'administration

La résorption digestive est soumise à de nombreux aléas : inactivation du produit par l'acidité gastrique ou la flore digestive, variations liées à la présence conjointe d'aliments ou d'autres médicaments, à l'existence d'une malabsorption ou de trouble du transit.

Ces facteurs, causes d'importantes variations individuelles de l'absorption, rendent la voie orale difficilement utilisable dans la plupart des infections graves.

La résorption après administration parentérale est sûre et rapide ; toutefois, celle-ci après injection intramusculaire (IM) peut être mauvaise lors d'un collapsus.

IV.1.2 – La diffusion

- La diffusion sanguine est aisément mesurable. Le pic sérique ou concentration maximale survient dès la fin d'une injection IV, une heure environ après IM et deux heures environ après une prise orale.

La concentration sérique baisse ensuite de façon Logarithmique permettant de définir la demi-vie sérique.

Souvent les antibiotiques sont en partie liés aux protéines plasmatiques. La fraction liée constituant un volant de réserve, alors que la fraction libre est la seule immédiatement active, diffusible et métabolisable.

- La diffusion tissulaire des antibiotiques est complexe. S'il est encore aisé de mesurer les concentrations d'antibiotiques, dans les séreuses, la

diffusion dans les tissus est mal connue, notamment en ce qui concerne les fractions actives.

D'une façon générale, certains antibiotiques, grâce à leur taille et leurs propriétés physico-chimiques ont une bonne diffusion (tétracyclines, macrolides, synergistines, rifampicine, chloramphénicol). Pour d'autres, cette diffusion est moyenne (β -lactamine, aminoside), ou mauvaise (polymyxine, vancomycine).

Les concentrations d'antibiotiques varient selon les milieux et les tissus.

- Les aminosides sont particulièrement concentrés dans le cortex rénal.
- La diffusion pulmonaire de nombreux antibiotiques est bonne.
- Le passage des antibiotiques dans le LCR est généralement faible sauf pour le chloramphénicol et les sulfamides.

Certaines conditions locales sont susceptibles de modifier l'activité de certains antibiotiques comme les aminoglycosides dont l'efficacité est amoindrie à pH acide ou en anaérobiose.

Enfin, dans les infections où le germe est intracellulaire, la pénétration intracytoplasmique de certains produits (chloramphénicol, tétracycline, rifampicine) est d'un intérêt primordial.

IV.1.3 – Transformation et Elimination

Certains antibiotiques non métabolisés sont éliminés sous forme active ; d'autres sont transformés en dérivés souvent inactifs. L'élimination des antibiotiques est urinaire et/ou biliaire. L'existence d'un cycle entéro-hépatique allonge la demi-vie sérique du produit. Ces étapes de transformation et d'élimination justifient une adaptation des doses en cas de défaillance hépatique ou rénale.

IV.1.4 – Pharmacocinétique à doses répétées

Les doses administrées par jour donnent des concentrations maximales et minimales qui augmentent au cours des premières 48 heures puis se stabilisent en donnant le steady-state.

IV.1.5 – Effet post-Antibiotique

L'effet post-antibiotique (EPA) est défini comme une inhibition durable de la croissance bactérienne, après une exposition limitée des bactéries à un agent antimicrobien.

Contrairement aux β -lactamines les macrolides exercent un EPA contre les bactéries à Gram positifs et Gram négatifs.

IV.1.6 – Quotient inhibiteur

C'est le rapport obtenu en divisant la concentration d'antibiotique obtenue dans un liquide biologique ou un tissu particulier par la CMI pour l'agent pathogène en question. On peut l'établir au moment du pic sérique ou bien au moment du taux résiduel. Plus il est élevé, meilleure doit être l'activité thérapeutique. En règle générale un antibiotique est considéré comme actif si le quotient inhibiteur est supérieur à 10 au niveau du site infectieux.

IV.1.7 – Antibiotiques « dose et temps dépendants »

- Antibiotiques « dose-dépendants »

Ce sont les antibiotiques dont la vitesse de bactéricidie dépend de la concentration d'antibiotique utilisée, par exemple : les aminosides. On cherchera en clinique plutôt à obtenir des pics élevés.

- Antibiotiques « temps-dépendants »

Le maximum d'activité est tout de suite atteint, et le temps de contact devient prédominant ; exemple : céphalosporine. On cherchera en clinique plutôt à obtenir des aires sous la courbe (AUC) importantes.

IV.2 – PENETRATION DE L'ANTIBIOTIQUE AU SEIN DU FOYER INFECTIEUX [6, 37, 48]

La pénétration de l'antibiotique au sein du foyer infectieux est une condition indispensable de succès. L'antibiotique doit atteindre, au contact des bactéries, une concentration supérieure à la CMI du germe en cause.

Plusieurs facteurs règlent cette pénétration :

IV.2.1 – Condition Anatomique du foyer

Des phénomènes locaux tels qu'ischémie, enkystement, collections suppurées, dépôts fibrineux peuvent entraver la diffusion de l'antibiotique à l'intérieur même du foyer infectieux.

IV.2.2 – Siège de l'infection

Il est capital, car l'antibiotique ne diffusant pas de la même manière dans tous les tissus de l'organisme. C'est pourquoi quelques notions de pharmacocinétiques des antibiotiques doivent être connues.

IV.3 – PRINCIPAUX PARAMETRES [8, 18, 30, 32].

Tableau I : Paramètres pharmacocinétiques

Antibiotiques	D.A	C° Max mg/l	T Max (h)	LP (%)	T ½ (heures)
Aminopénicilline					
Amoxicilline-	1g/po	5 – 7	2h	18 –20	1 à 1h 30
	1g/iv	40	5–15 mn		
Ampicilline	1g/im	20	½ - 1h		
Céphalosporines					
Céfalotine (I° G)	1g/im	20	30-60 mn	50 – 60	30–50 mn
Céfoxitime (II° G)	1g/iv	72	30 mn	55 – 80	45–60 mn
Céfotaxime (III° G)	1g/po	15 – 25	1-2	40	60 mn
Macrolides					
Spiramycine	2g/po	2,8	2h	40	8
Erythromycine (Elhysuccinate)	1g/po	3,4	1-2	40	2
Quinolone					
Ciprofloxacine	100mg/po	0,8	1-2	20	4 – 7
Aminosides					
Gentamicine	1mg/kg/im	4 – 6	½ - 1h	3	2 – 3
Cotrimoxazole					
Triméthoprime	160mg po	3,4	3	45	10 – 12
Sulfaméthoxazole	800mg po	46	2 – 3	65	9 – 11

D.A. : dose administrée ; **Cmax** :concentration maximale (pic sérique)
Tmax : délai d'obtention de la Cmax. **T ½**: demi-vie, **LP** : liaison protéique

Tableau II : Concentration d'Antibiotiques dans le sérum et les sécrétions bronchiques 2 à 3 heures après administration chez l'homme. [5, 42].

Antibiotiques	Doses	Modes et Voies	Moyenne concentration		Nombre de patients
			Sérique	Bronchique	
β-lactamines					
Ampicilline	1g	po (du)	3,1	0,12	9
Pénicilline	2 millions ui	iv (du)	18	2,5	ND
Amoxicilline	1g	po (du)	14,7	0,52	11
Cefuroxime	0,75g	im (du)	10,6	1,95	14
Cefotaxime	1g	im (du)	5,8	1,45	20
Ceftriaxone	2g	iv (dm)	53 ± 18	4,4 ± 4	22
Macrolides					
Erythromycine (Ethylsuccinate)	1g x 2	po (dm)	1,37	0,59	19
Spiramycine	1,5g	po (du)	3,3	7,3	25
Josamycine	1g	po (dm)	2,68 ± 2,39	1,6 ± 1,59*	15
Aminosides					
Amikacine	0,5g	im (dm)	11	2,7	8
Tobramycine	1,7mg/kg	iv (dm)	4,09	2,68	10
Gentamicine	5mg/kg/j	iv (dm)	5 – 6	5 – 7	ND
Quinolones					
Ciprofloxacine	0,5g x 2	po (dm)	2,7	1,3	80
Ofloxacine	0,2g	po (du)	1,64 ± 0,64	1,51 ± 0,70	25
Péfloxacine	0,4g	iv (du)	4,56 ± 1,82	3,83 ± 1,24	43
	0,4g	po (dm)	5,14 ± 2,33	4,56 ± 1,80	43
Cotrimoxazole					
sulfaméthoxazole	0,8g	po (du)	47,4	8,7	25
Triméthoprime	0,16g	po (du)	1,58	2,2	25
du : dose unique ; dm : doses multiples ; ND : non déterminé ; * : Expectoration					

2^{EME} PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

A- MATERIEL ET METHODES :

Le cadre d'étude de ce travail a été :

- Pour les prélèvements : → CHU de Fann → Clinique de Pneumologie
Maladies infectieuses
→ HALD: → Pachon, Laennec, Laveran,
Pédiatrie, Privés.
- Pour les manipulations : → Laboratoire National de Contrôle des
Médicaments (LNCM) sis en face HALD
→ Laboratoire de Bactériologie et de Virologie de
l'HALD.

I - MATERIELS ET REACTIFS

I.1 - ANTIBIOTIQUES DOSÉS :

Les antibiotiques dosés sont les suivants :

- Bêta-lactamines
 - Amoxicilline
 - Amoxicilline + Acide clavulanique (amoxi-clav.)
 - Céfotaxime
- Macrolides
 - Erythromycine
 - Spiramycine
- Aminosides
 - Gentamicine
- Quinolones
 - Ciprofloxacine
- Autres : Cotrimoxazole

I.2 - PRÉLÈVEMENTS :

Le prélèvement pour le dosage est effectué quand le malade est sous traitement antibiotique depuis au moins 48 heures.

⇒ Numérotage selon la provenance

Fann	:	Pneumologie	—————→	1000
		Maladies infectieuses	————→	2000
HALD	:	(Pachon, Laveran, Laennec)	→	4000
		Pédiatrie	—————→	3000
		Privés:	—————→	5000

⇒ Nature du prélèvement

- Le prélèvement sanguin doit se faire en fonction du schéma thérapeutique:
 - ½ heure après si l'administration est faite par voie intraveineuse (iv)
 - 1 heure après s'il s'agit de la voie intra-musculaire (im)
 - 2 heures après si elle est faite per-os (po).

Le dosage se fera sur du sérum obtenu après centrifugation.

- Les expectorations et liquides de sécrétions bronchiques sont fluidifiés avec une solution d'acétyl-cystéine 0,1%, puis filtrés dans des cryotubes Nunc® stériles et conservés au frais. Les dilutions opérées sont les suivantes :
 - Dilution au 1/3 pour les prélèvements : 3002 J₃, 3002 J₁₀, 3015 J₃, 4002 J₁₀, 4015 J₁₀, 5003 J₃ et 3015 J₁₀.
 - Dilution au 1/4 pour les prélèvements : 1009 J₁₀, 1013 J₃, 1018 J₃, 1018 J₁₀, 1023 J₃, 1024 J₁₀, 1027 J₄, 2006 J₅, 2006 J₁₀ et 2009 J₄.
 - Dilution au 1/2 pour tous les prélèvements non sanguins qui restent.

Tableau III : Répartition des prélèvements selon la provenance

Structure	J ₀	J ₃ - J ₅	J ₁₀ - J ₁₅	Total
Pneumologie	26	20	15	61
M. Infectieuses	10	09	02	21
Pédiatrie	20	15	13	48
Pachon	12	08	05	25
Laveran	05	02	02	09
Laennec	09	03	02	14
Privés	05	04	00	09
Total	87	61	39	186

Tableau IV : Population d'étude selon l'âge

	Age (ans)	Nombre	Total
Enfants	0 - 2	21	28
	2 - 5	01	
	> 5	06	
Adultes	17 - 20	09	72
	21 - 30	20	
	31 - 40	10	
	41 - 50	12	
	51 - 65	14	
	> 65	07	

I.3 DÉTERMINATION CONCENTRATION (dosage)

I.3.1 Matériels

- Pipettes, micropipettes, aide pipetteur
- Embouts stériles jaunes et bleus
- Tubes à hémolyse stériles, flacons...(verrerie)
- Cryotubes Nunc^R
- Four à micro-ondes
- Etuve

- Vortex
- Boîtes de pétri stériles
- Autoclave
- Mac Farland 0,5
- Pied à coulisse
- Portoirs
- Hôte à flux laminaire vertical
- Disque de 6 mm de diamètre
- Pincés stériles

I.3.2 Réactifs

Les milieux utilisés ont été les suivants :

- Gélose Mueller-Hinton (MH) et bouillon glucosé tamponné (BGT)
- Antibiotic Media (AM) : AM1, AM2, AM11
- Milieu pour entretien des souches, gélose nutritive (GN)
- Eau physiologique.

I.4 SUBSTANCE DE RÉFÉRENCE :

I.4.1 Matériel pour la préparation:

- Pipettes et Micropipettes
- Balance de précision
- Tubes à essai
- Cryotubes, spatules
- Filtres
- Embouts stériles.

I.4.2- Réactifs : (tableau V)

- Tampon 1 à pH8
- H₂O distillée stérile

- Méthanol
- Acétone.

I.5- SOUCHE-TEST : (tableau VI)

Nous avons utilisé des souches de référence standard :

- *E. coli* ATCC 25922
- *S. aureus* ATCC 29213
- *E.coli* ATCC 35218

II - PREPARATIONS :

II.1 - PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE :

Pour le Mueller-Hinton ; dissoudre 35g de poudre dans 1l d'eau distillée stérile, porter à ébullition puis vérifier le pH et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 min.

Nous avons utilisé d'autres milieux sélectifs pour les dosages :

AM2 pour certaines β-lactamines

AM1 ou AM2 additionné de 1% de citrate de sodium et 0,5% de chlorure de sodium.

AM11 pour les Macrolides et aminosides.

La formule pour la préparation est mentionnée sur le flacon.

II.2 PRÉPARATION DE LA GAMME D'ÉTALONNAGE :

Nous avons préparé puis congelé les substances de référence d'antibiotiques sous forme de solutions mères 100 fois plus concentrées que la première dilution de la gamme à préparer.

Nous avons utilisé les formules suivantes pour déterminer la masse de poudre et le volume de diluant pour préparer la solution mère :

$$\text{Masse (mg)} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{Concentration (}\mu\text{g/ml)}}{\text{Titre (}\mu\text{g/mg)}}$$

Pour l'amoxicilline par exemple, C°= 1600 mg/l

Nous avons fait une dilution au 1/10^e pour obtenir la solution à 160mg/l, puis des dilutions de 1/2 en 1/2 pour obtenir la gamme : (160- 80- 40- 20- 10- 5)

Pour les dilutions en sérum, du sérum humain ou du sérum de poulain a été utilisé comme diluant. La gamme utilisée a été : (16- 8- 4- 2- 1- 0,5)

II.3 PRÉPARATION DE L'INOCULUM :

A partir d'une souche bactérienne enrichie sur bouillon glucosé tamponé (BGT) et entretenue sur MH ou GN. Nous avons préparé une suspension bactérienne, avec de l'eau physiologique stérile et ayant 1 opacité de 0,5 Mc Farland. La préparation s'est faite durant la manipulation.

II.4 CONTRÔLE DE QUALITÉ :

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

- ***les souches de référence :***

Leur utilisation permet de juger la reproductibilité des tests. Un certain nombre de règles doit être respecté :

- utiliser les souches de référence sûres de type ATCC,
- entretenir correctement les souches de contrôle de qualité (conservation selon deux méthodes à -70°C dans les cryotubes pour l'utilisation de longue durée ; ou en stock de culture pour l'utilisation en routine).

- ***Les milieux et réactifs :***

Il faut s'assurer de leur stabilité pour espérer obtenir des résultats de qualité ; pour cela il faut :

- vérifier les dates de péremption des milieux et réactifs,

- un stockage correct des milieux de culture des antibiotiques en poudre selon les directives du fabricant ; des relevés quotidiens de la température du Freezer et du réfrigérateur,
- une manipulation correcte, avec respect de la démarche du protocole établi.

III - METHODES :

III.1 - DOSAGE MICROBIOLOGIQUE :

Nous avons utilisé le dosage microbiologique par la méthode de diffusion sur gélose avec des disques de 6 mm de diamètre.

III.1.1 - Principe :

Le dosage microbiologique des antibiotiques consiste à comparer le diamètre d'inhibition obtenu avec l'échantillon à doser, déposé à la surface d'une gélose ensemencée d'une bactérie sensible, aux diamètres d'une gamme de concentrations connues d'une substance de référence.

III.1.2 Technique :

- Régénérer le milieu de culture et la laisser en surfusion à 45 – 50°C.
- Préparer l'inoculum.
- Ensemencer un volume de 100 ml de milieu de culture avec 0,5 à 1ml d'inoculum selon la souche.
- Couler sur 3 à 5 boîtes de pétri et laisser solidifier.
- A l'aide de pinces stériles, les 6 disques sont déposés sous forme de cercle selon un schéma établi.
- Charger 5 disques avec 15µl de solutions étalon de la gamme et le 6^{ème} avec le prélèvement.
- Laisser diffuser 1 à 2 h sous la hotte

- Incuber à 37°C à l'étuve pendant 18 à 24 heures.
- Mesurer les diamètres d'inhibition obtenus à l'aide du pied à coulisse ou du lecteur de microfilm (Read biotic)

III.2 - ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES :

Nous avons utilisé le schéma habituel pour l'isolement et l'identification des souches bactériennes. Les souches ont été réisolées sur des géloses ordinaires ou enrichies, puis nous les avons identifiés par des galeries classiques complétées par des mini-galeries d'identification et au besoin par des méthodes d'identification sur micro-plaques mises au point au niveau du Laboratoire de Bactériologie - Virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec par le professeur BOYE.

III.3 - DETERMINATION CMI ET CMI₉₀ :

La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber, in vitro, après 18 heures de contact à 37°C, toute croissance visible à l'œil nu.

Le principe est le suivant : un inoculum de 10⁶ bactéries / ml est exposé à des concentrations croissantes d'antibiotiques (habituellement en progression géométrique de raison 2).

La CMI₉₀ est la concentration inhibant la croissance de 90% des souches.

Elle est obtenue à partir de la CMI par un simple calcul : c'est la détermination de la médiane par la méthode d'extrapolation linéaire. Les CMI₅₀ et CMI₉₀ sont données par la formule suivante :

$$X = \frac{A - B}{C - B} (Z - Y) + Y$$

Si X = CMI₉₀

A = 90 % des souches inhibées

B = effectifs cumulés immédiatement inférieurs à A

C = effectifs cumulés immédiatement supérieurs à A

B < A < C

Y = CMI de B

Z = CMI de C

Le WHONET IV nous donne directement les valeurs.

IV - FACTEURS INFLUENÇANT LE DOSAGE.

Cette technique de dosage doit être rigoureusement standardisée car elle est influencée par de nombreux facteurs :

- Facteurs liés au milieu de culture : composition, pH, épaisseur.
- Facteurs liés à la souche bactérienne-test : croissance et sensibilité à l'antibiotique testé.
- Facteurs liés à l'antibiotique de référence : poids moléculaire, conservation et pH de la solution mère
- Facteurs liés au diluant :
 - Sérum stérile sans antibiotique pour un dosage sérique
 - Tampon de pH convenable pour les autres produits biologiques
- Facteurs liés à l'antibiotique dosé : si le produit biologique contient plusieurs antibiotiques, il faut éviter les interférences. On utilise soit une souche-test sensible seulement à l'antibiotique dosé, soit un procédé physico-chimique ou biologique (**ex** : une β -lactamase appropriée permet le dosage d'autres antibiotiques en présence de β -lactamine).

Tableau V : Solvants et diluants des antibiotiques

Antibiotiques	Solvants	Diluants
Amoxicilline	Tampon 1 pH 6	Eau distillée stérile
Amoxi-clav.	Tampon 1 pH 6	Eau distillée stérile
Céfotaxime	Tampon 1 pH 6	Eau distillée stérile
Erythromycine	Méthanol	Tampon 3 pH 8

Spiramycine	Acétone	Eau distillée stérile
Gentamicine	Tampon 3 pH 8	Tampon 3 pH 8
Ciprofloxacine	NaOH 0,1 N	Eau distillée stérile
Cotrimoxazole	Méthanol	Eau distillée stérile

Tableau VI : Souche-test et milieu de culture de l'antibiotique

Antibiotiques	Souche-test	Milieu de culture
Amoxicilline	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	MH ou AM2
Amoxi-clav.	<i>E.coli</i> ATCC 35218	MH ou AM2
Céfotaxime	<i>E.coli</i> ATCC 25922	AM1 ou AM11
Erythromycine	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	AM11
Spiramycine	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	AM11
Gentamicine	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	AM11
	<i>E.coli</i> ATCC 25922	
Ciprofloxacine	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	MH
Cotrimoxazole	<i>E.coli</i> ATCC 25922	MH
	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	

B- RESULTATS ET COMMENTAIRES

I- LES PRELEVEMENTS SELECTIONNES POUR LES DOSAGES

- Les prélèvements de J₀ ont été utilisés pour l'isolement et l'identification des souches (Tableau XI).
- Les prélèvements de J₃ à J₅ et J₁₀ à J₁₅ ont été utilisés pour le dosage. Après avoir fluidifié avec de l'acétyl cystéine, nous avons fait un screening pour sélectionner les prélèvements contenant une concentration d'antibiotiques non négligeable pour être dosée. Les prélèvements contenus dans le tableau VII ont été retenus.
- D'autres prélèvements de J₁₀ à J₁₅ ont été utilisés pour le contrôle : essai d'isolement pour voir si la souche a été éliminée ou non.

Tableau VII : Jour de prélèvement et traitement prescrit

Numéro prélèvement	Expectorations		Sérums
	J ₃ - J ₅	J ₁₀ - J ₁₅	
1002		Amoxicilline 2 g/j PO	J ₁₀
1003	Gentamicine 160 mg/j /IV	Gentamicine 160 mg/j /IV	J ₁₀
1004		Spiramycine 2 g/j PO	
1009		Amoxi-clav 2 g/j PO	J ₁₀
1010	Amoxi-clav 2 g/j PO	Ciprofloxacine 1 g/j PO	J ₃
1011	Amoxicilline 2 g/j PO		J ₃
1012	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	
1013	Spiramycine 2 g/j PO		
1014	Amoxicilline 2 g/j PO	Céfotaxime 1 g/j IM	
1018	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	
1019	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	J ₄
1021	Amoxi-clav 2 g/j PO	Amoxicilline 2 g/j PO	J ₄
1023	Amoxicilline 2 g/j PO	Amoxicilline 2 g/j PO	
1024	Amoxicilline 2 g/j PO	Amoxicilline 2 g/j PO	
1025	Amoxi-clav 2 g/j PO		J ₃
1027	Ciprofloxacine 1 g/j PO		J ₄
2004	Spiramycine 2 g/j PO		J ₅

2006	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	J5
2007	Spiramycine 2 g/j PO		J3
2009	Spiramycine 2 g/j PO		J4
3002	Cotrimoxazole 500 mg/j PO	Cotrimoxazole 500 mg/j IM	J3
3008	Cotrimoxazole 500 mg/j PO	Cotrimoxazole 500 mg/j PO	J10
3009	Amoxicilline 1 g/j PO	Amoxicilline 1 g/j PO	J3
3015	Amoxicilline 1 g/j PO	Amoxi-clav 1 g/j PO	
3017	Spiramycine 1 g/j PO	Spiramycine 1 g/j PO	
3018	Amoxi-clav 1 g/j PO	Spiramycine 1 g/j PO	
3019	Cotrimoxazole	Amoxi-clav 1 g/j PO	
3022	Amoxicilline 1 g/j PO	Amoxi-clav 1 g/j PO	
3024	Cotrimoxazole	Amoxi-clav 1 g/j PO	
4002	Erythromycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	
4004	Amoxicilline 2 g/j PO		
4006	Amoxicilline 2 g/j PO		
4008	Spiramycine 2 g/j PO		
4012	Ciprofloxacine 800 mg/j PO	Ciprofloxacine 1 g/j PO	
4015	Céfotaxime 1 g/j IM	Céfotaxime 1 g/j IM	
4018	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	
4019	Amoxi-clav 2 g/j PO	Amoxi-clav 2 g/j PO	
4020	Amoxi-clav 2 g/j PO		
4021		Erythromycine 2 g/j PO	
4022		Céfotaxime 1 g/j IM	
4024	Spiramycine 2 g/j PO	Spiramycine 2 g/j PO	
5001	Spiramycine 2 g/j PO		
5002	Spiramycine 2 g/j PO		
5003	Spiramycine 2 g/j PO		

II- RESULTATS

II.1 - GAMMES D'ÉTALONNAGE POUR LES DOSAGES DANS LES EXPECTORATIONS

➤ Tableau IX-a : Gamme d'étalonnage de l'Amoxicilline donnant la figure 1

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	23	17,75	12,60	9,45	7,20

➤ Tableau IX-b : Gamme d'étalonnage de l'Amoxici-clav donnant la figure 2

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	25	19	14,40	9,80	7

➤ Tableau IX-c : Gamme d'étalonnage de la Cefotaxime donnant la figure 3

Concentrations (mg /l)	51,20	25,60	12,80	6,40	3,20
Diamètres (mm)	21	15,35	12,95	10,92	6,50

➤ Tableau IX-d : Gamme d'étalonnage de la Spiramycine donnant la figure 4

Concentrations (mg /l)	51,20	25,60	12,80	6,40	3,20
Diamètres (mm)	14,90	9,50	7	6,75	6,30

➤ Tableau IX-e : Gamme d'étalonnage de l'Erythromycine donnant la figure 5

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	18,70	14,30	11,85	9,95	7,88

➤ **Tableau IX-f : Gamme d'étalonnage de la Gentamicine donnant la figure 6**

Concentrations (mg /l)	51,20	25,60	12,80	6,40	3,20
Diamètres (mm)	21,95	18,60	13,75	11,35	9,50

➤ **Tableau IX-g : Gamme d'étalonnage de la Ciprofloxacine donnant la figure 7**

Concentrations (mg /l)	51,20	25,60	12,80
Diamètres (mm)	13,78	10,20	8,10

➤ **Tableau IX-h : Gamme d'étalonnage du Cotrimoxazole donnant la figure 8**

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	15,33	13,58	11,52	8,90	6,50

Ces gammes d'étalonnage nous ont permis de tracer les courbes qui ont donné une droite corrigée ou droite de corrélation d'équation $Y = Ax + B$, avec $R =$ facteur facteur corrélation.

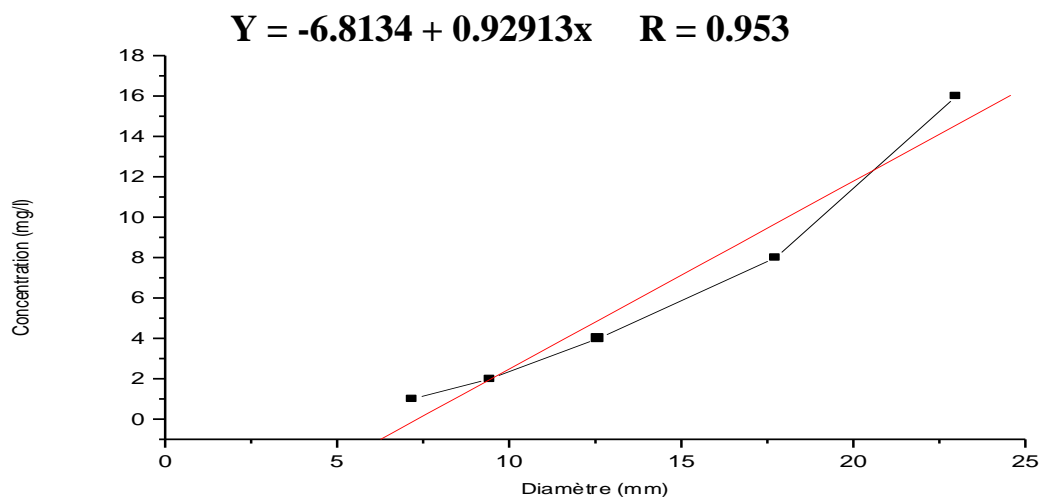


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'Amoxicilline avec *S. aureus* sur AM2

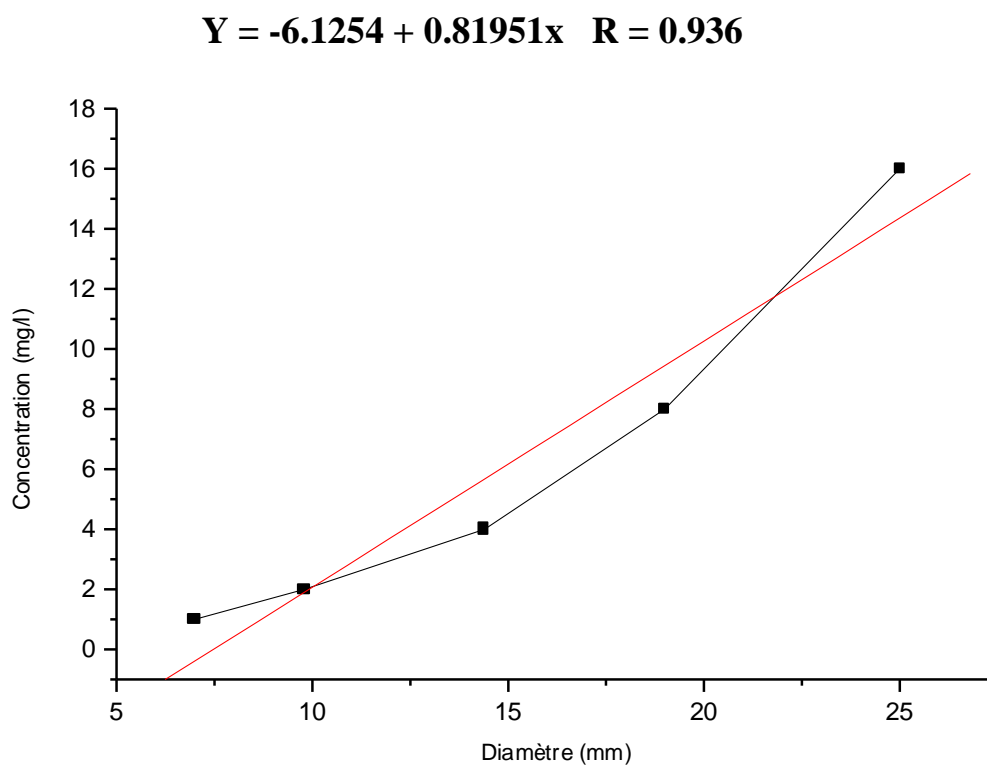


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'Amoxi-clav avec *S. aureus* sur AM2

$$Y = -26.471 + 3.4706x \quad R = 0.913$$

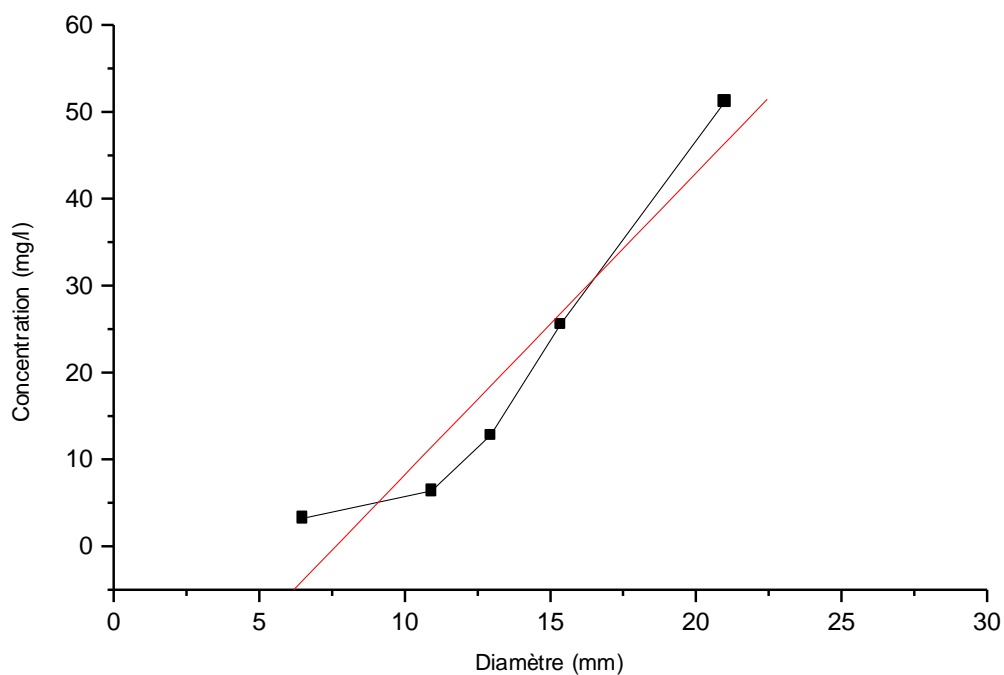


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la Cefotaxime avec *S. aureus* sur AM1

$$Y = -25.996 + 5.4418x \quad R = 0.993$$

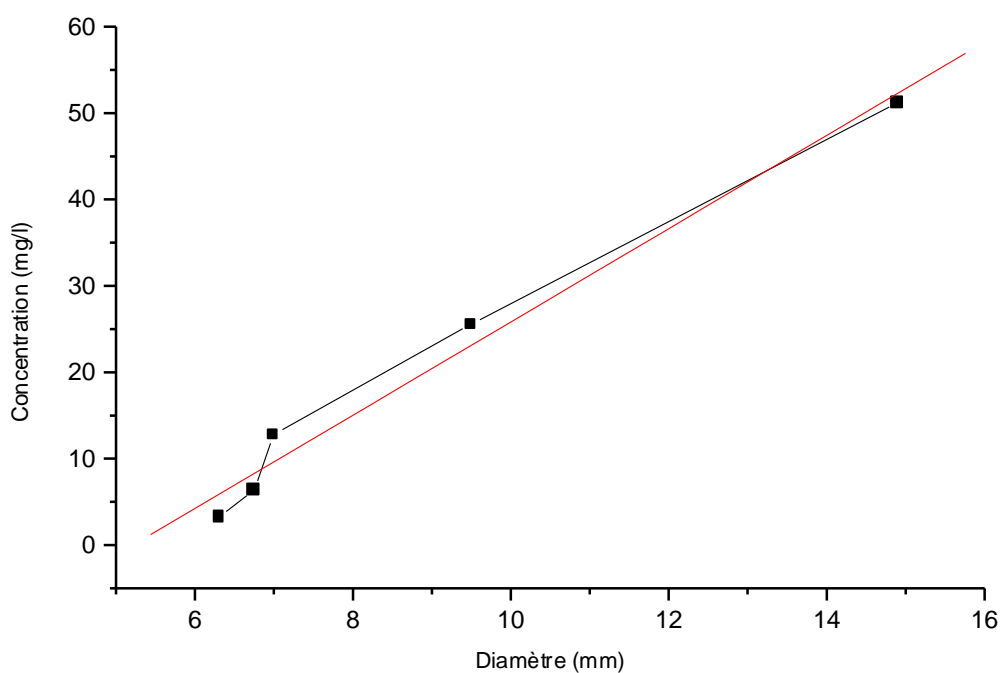


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de la Spiramycine avec *S. aureus* sur AM11

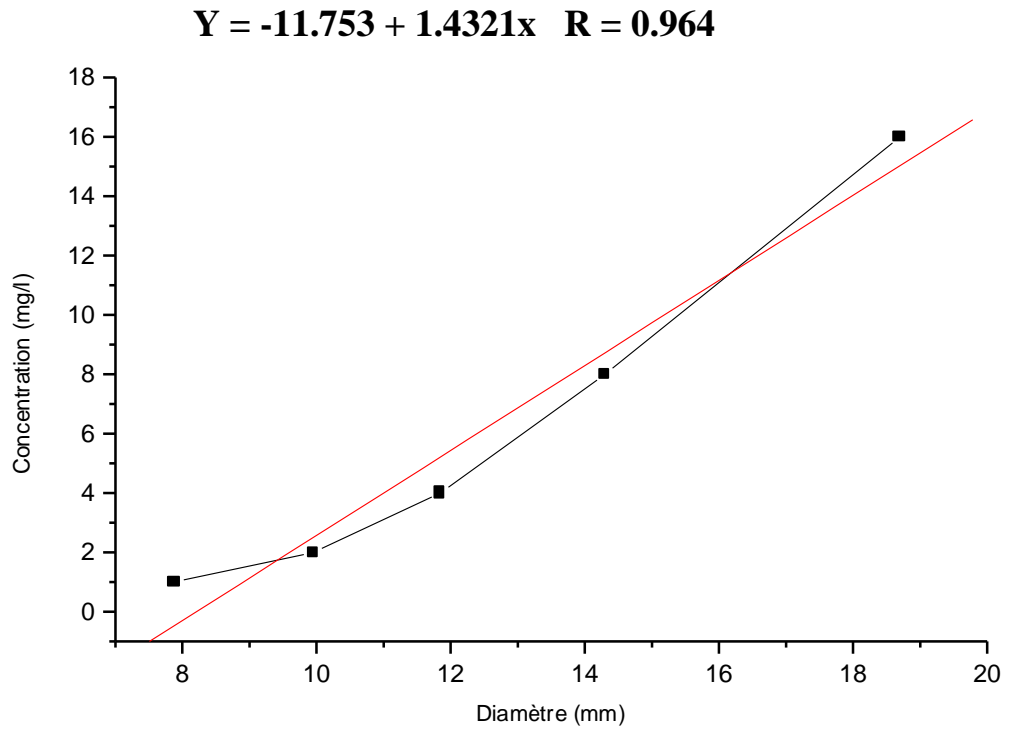


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'Erythromycine avec *S. aureus* sur AM11

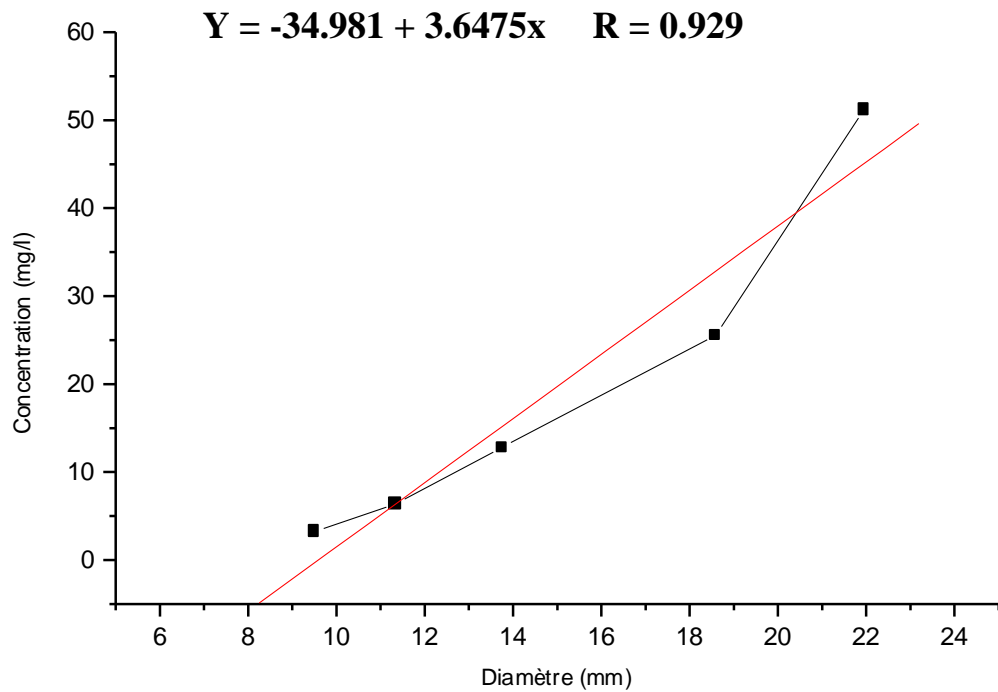


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la Gentamicine avec *E. coli* sur AM11

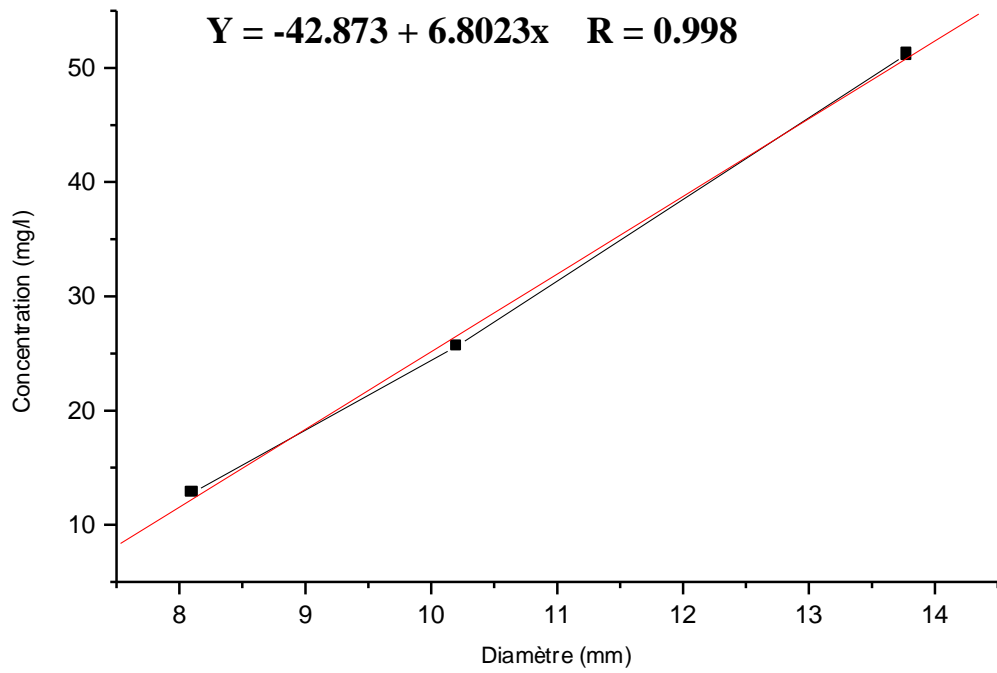


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de la Ciprofloxacin avec *S. aureus* sur MH

$$Y = -11.331 + 1.5771x \quad R = 0.814$$

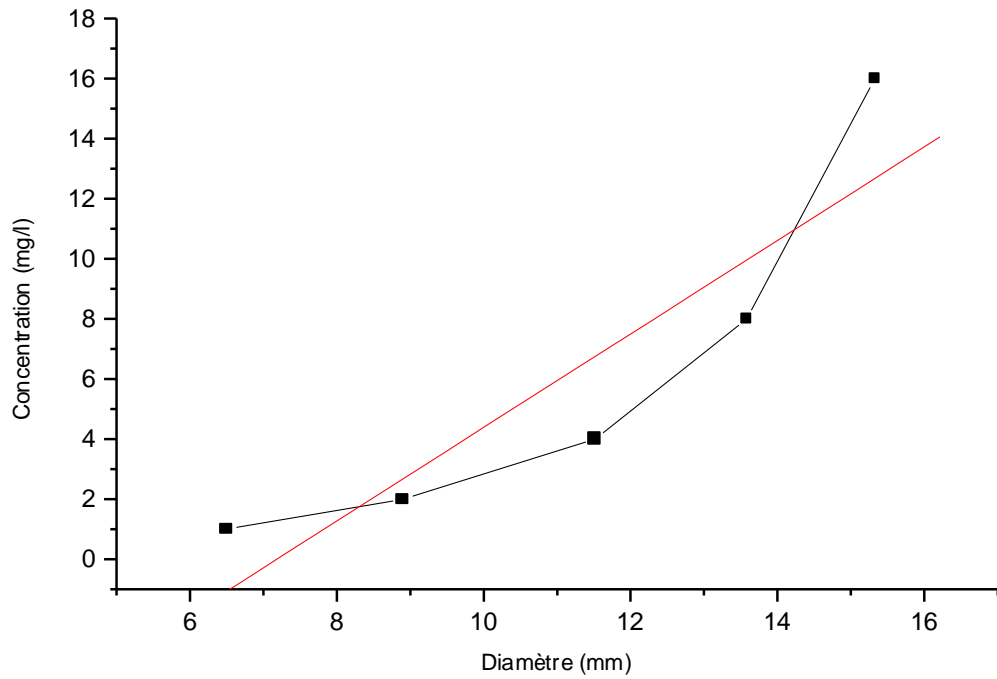


Figure 8 : Courbe d'étalonnage du Cotrimoxazole avec *E. coli* sur MH

II.2 - GAMMES D'ÉTALONNAGE POUR LES DOSAGES DANS LE SÉRUM

➤ **Tableau X-a : Gamme d'étalonnage de l'Amoxicilline donnant la figure 9**

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	16,50	12	9,30	7,80	7,50

➤ **Tableau X-b : Gamme d'étalonnage de l'Amoxi-clav donnant la figure 10**

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	15,85	11,30	8,60	7,30	7

➤ **Tableau X-c : Gamme d'étalonnage de la Cefotaxime donnant la figure 11**

Concentrations (mg /l)	25,50	12,75	6,37	3,18	1,59
Diamètres (mm)	16	13,50	12,80	8,15	7,20

➤ **Tableau X-d : Gamme d'étalonnage de la Spiramycine donnant la figure 12**

Concentrations (mg /l)	25,50	12,75	6,37	3,18
Diamètres (mm)	12,50	9	7,30	6,50

➤ **Tableau X-e : Gamme d'étalonnage de l'Erythromycine donnant la figure 13**

Concentrations (mg /l)	16	8	4	2	1
Diamètres (mm)	15	12	9,70	7,80	7

➤ **Tableau X-f** : Gamme d'étalonnage de la Gentamicine donnant la figure 14

Concentrations (mg /l)	12,75	6,37	3,18	1,59
Diamètres (mm)	17,80	16,70	15	13

➤ **Tableau X-g** : Gamme d'étalonnage de la Ciprofloxacine donnant la figure 15

Concentrations (mg /l)	25,50	12,75	6,37	3,18
Diamètres (mm)	18	14,50	10	7

➤ **Tableau X-h** : Gamme d'étalonnage du Cotrimoxazole donnant la figure 16

Concentrations (mg /l)	32	16	8	4	2
Diamètres (mm)	16	12	9,50	9	7,55

Ces gammes d'étalonnage nous ont permis de tracer les courbes qui ont donné une droite corrigée ou droite de corrélation d'équation $Y = Ax + B$, avec $R =$ facteur de corrélation.

$$Y = -11.101 + 1.6291x \quad R = 0.997$$

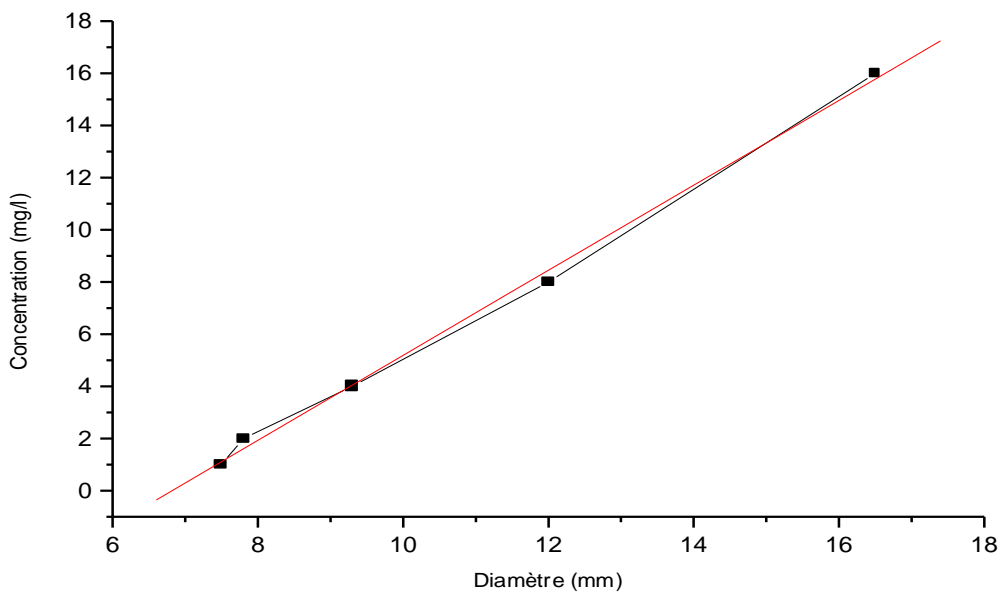


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'Amoxicilline avec *S. aureus* sur MH

$$Y = -10.376 + 1.6560x \quad R = 0.999$$

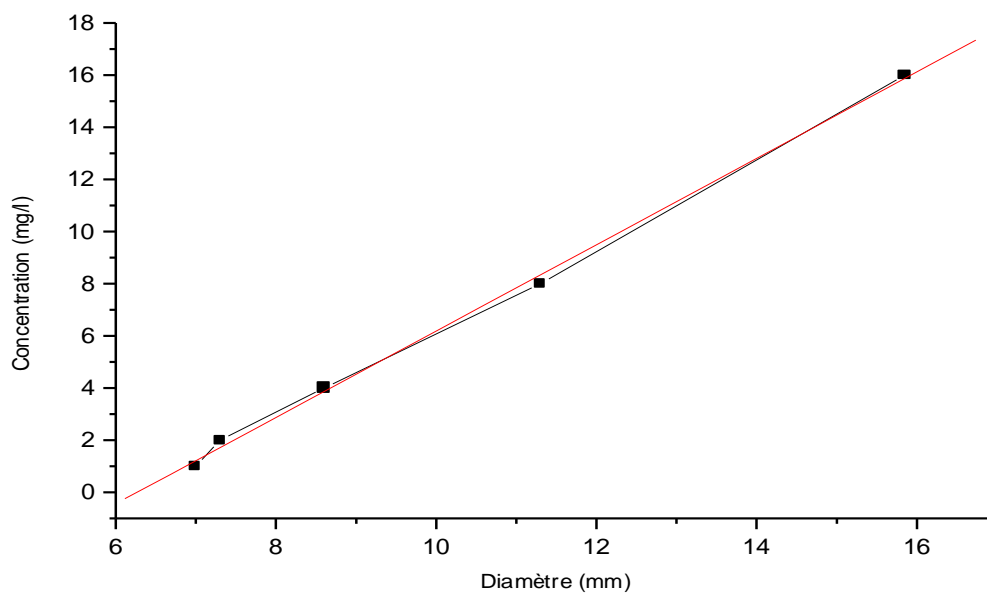


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'Amoxi-clav avec *S. aureus* sur MH

$$Y = -16.966 + 2.3282x \quad R = 0.798$$

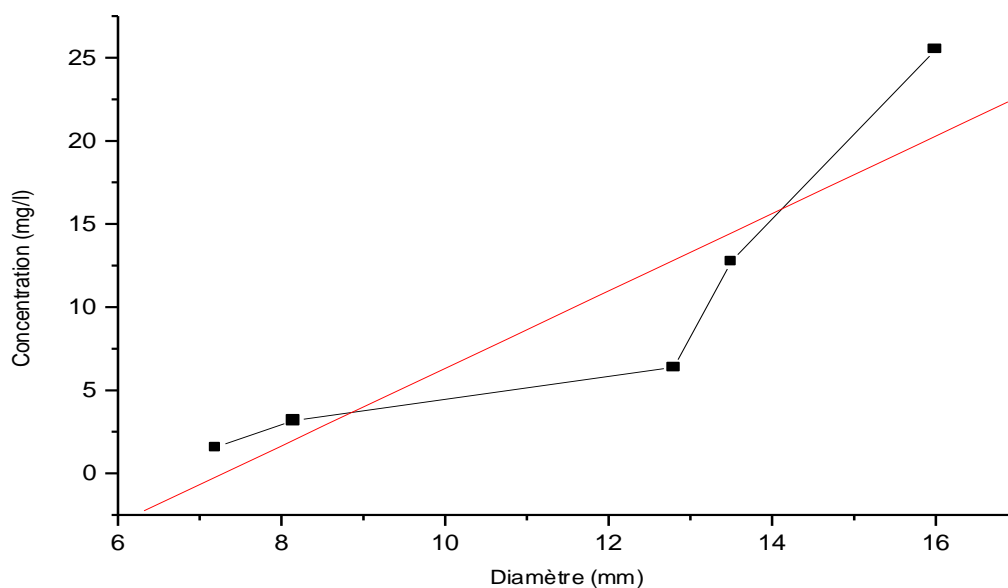


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la Cefotaxime avec *E. coli* sur AM11

$$Y = -20.763 + 3.7069x \quad R = 1.00$$

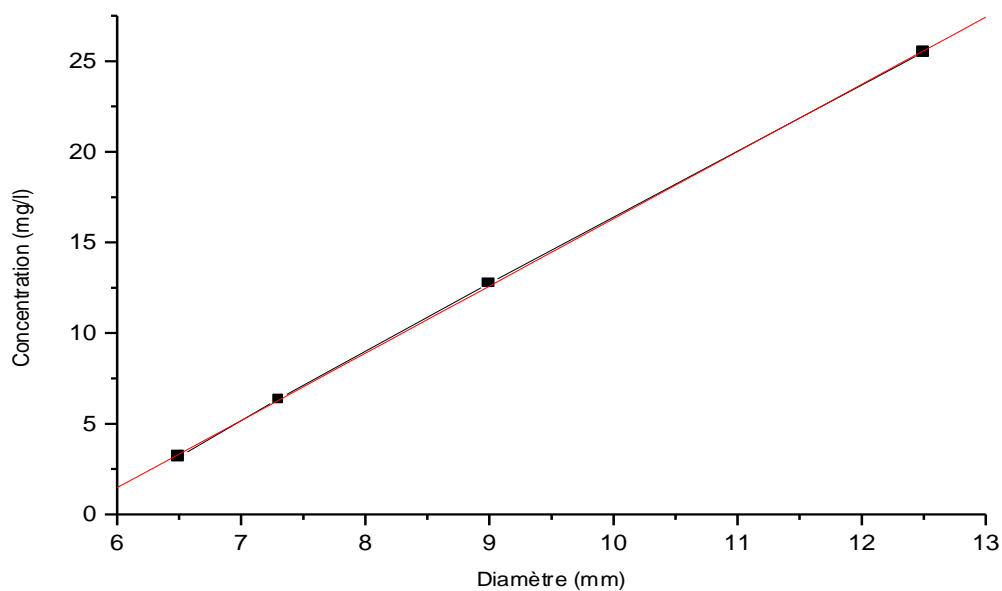


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la Spiramycine avec *S. aureus* sur AM11

$$Y = -12.737 + 1.8385x \quad R = 0.965$$

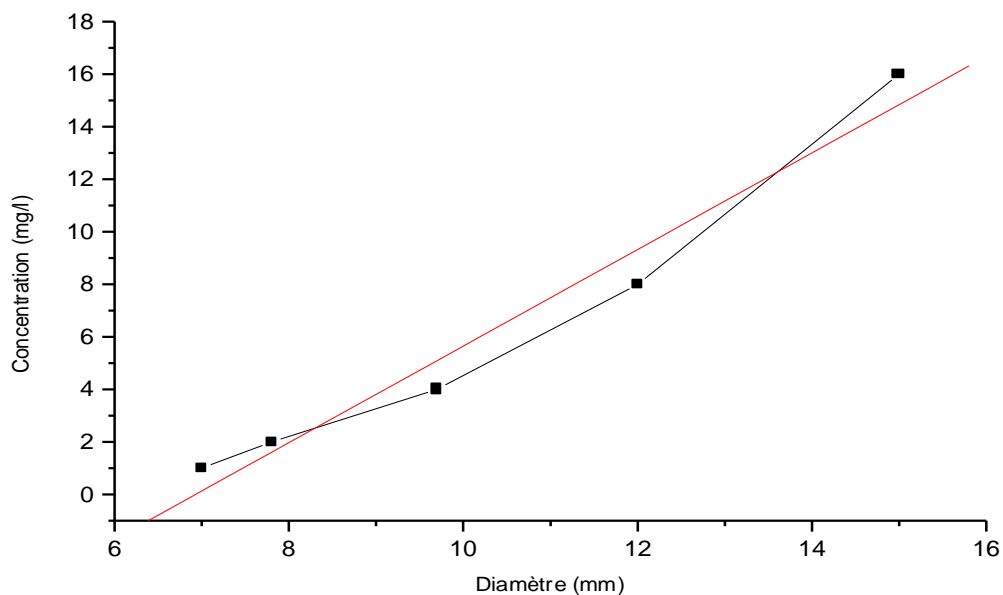


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'Erythromycine avec *S. aureus* sur AM11

$$Y = -26.892 + 3.1899x \quad R = 0.903$$

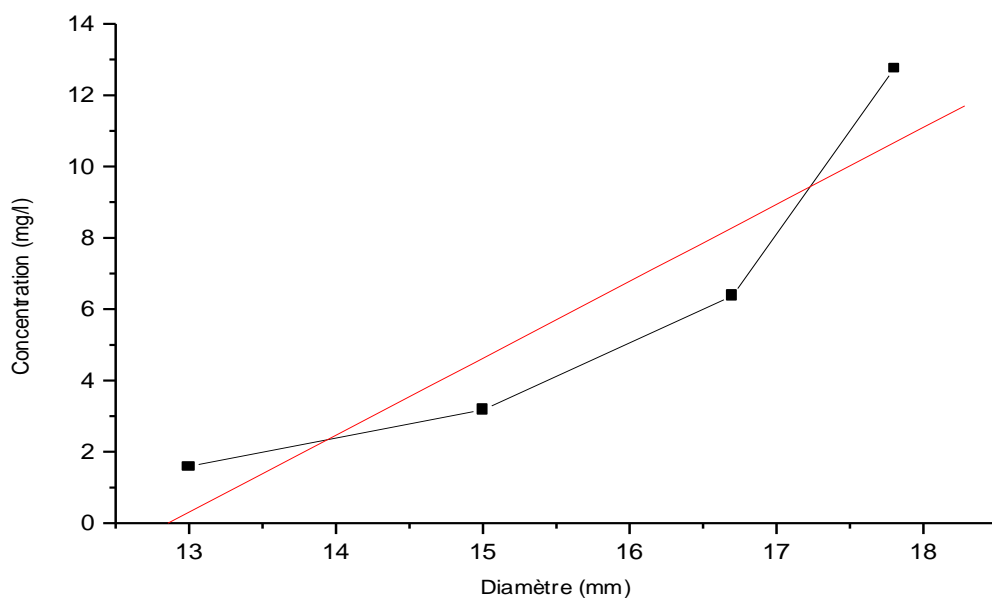


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la Gentamicine avec *S. aureus* sur AM11

$$Y = -12.660 + 2.0318x \quad R = 0.962$$

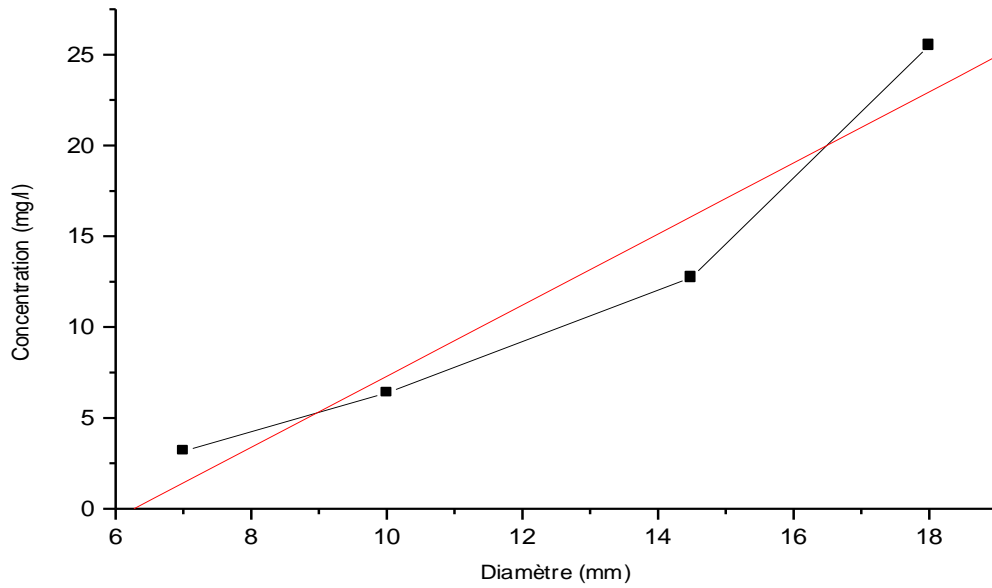


Figure 15 : Courbe d'étalonnage du Ciproflaxacine avec *S. aureus* sur MH

$$Y = -21.261 + 3.0478x \quad R = 0.958$$

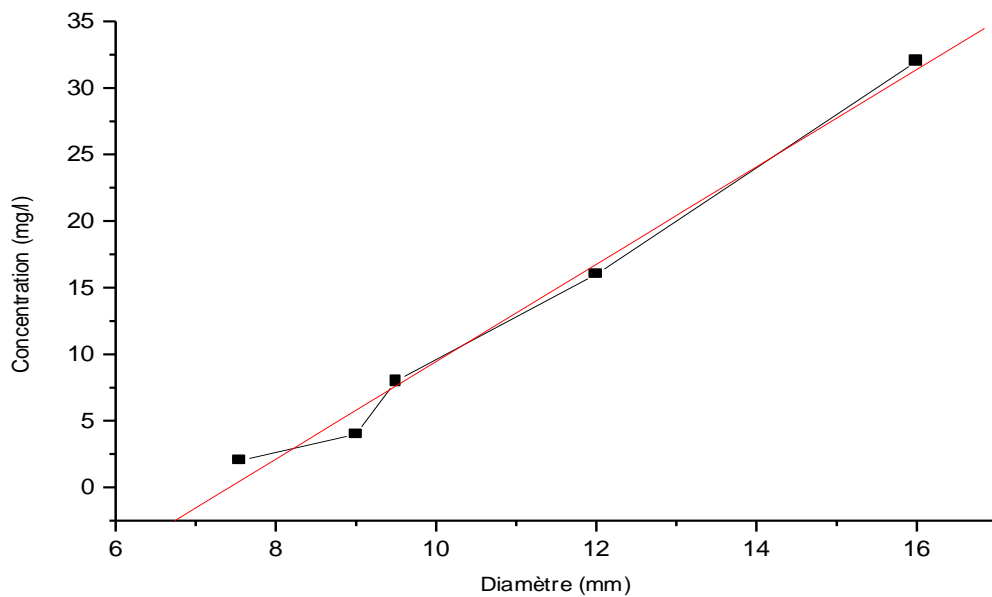


Figure 16 : Courbe d'étalonnage du Cotrimoxazole avec *E. coli* sur MH

Tableau XI : Résultats des isoléments bactériens

Germes	Enfants	Adultes	Total
<i>Pneumocoques</i>	9	8	17
<i>Streptococcus spp</i>	1	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	4	6
<i>Haemophilus influenzae</i>	10	14	24
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0	2	2
<i>Bacteroides fragilis</i>	0	5	5
<i>Bacteroides oralis (Provotella)</i>	0	1	1
<i>Actinomyces israelii</i>	0	1	1
<i>Actinomyces spp</i>	0	3	3
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2	2	4
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	9	9
<i>Legionella spp</i>	0	6	6
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	5	5
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0	1	1
<i>Kingella spp</i>	0	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	4	4
<i>Escherichia. coli</i>	1	2	3
<i>Enterobacter spp</i>	2	0	2

Nous avonse marqué qu'il y a beaucoup de souches retrouvées uniquement chez les adultes, ce qui oriente vers une antibiothérapie subordonnée à l'âge.

Nous avons noté aussi qu'il y a des souches isolées en association comme *Haemophilus influenzae* + *Streptococcus pneumoniae* + *Moraxella catarrhalis* + *E. coli*.

II.3 - RESULTATS DES DOSAGES

Tableau XII : Résultats du dosage des différents antibiotiques dans les expectorations de J₃ à J₅

Numéro prélèvement	Facteur de dilution (fd)	Diamètre obtenu X (mm)	Y (valeur après calcul avec l'équation)	Concentration C = Y.f _d
1003	1/2	9,50	0,60	1,2
1010	1/2	7,60	0,11	0,22
1011	1/2	7	0,64	1,28
1012	1/2	7	13,08	26,17
1013	1/4	6,50	10,36	41,44
1014	1/2	6,50	0,18	0,36
1018	1/4	8	18,53	74,12
1019	1/2	8	18,53	37,06
1021	1/2	8	0,43	0,86
1023	1/4	8	1,57	6,29
1024	1/2	8,50	2,04	4,08
1025	1/2	8	0,43	0,86
1027	1/4	8	11,54	44,16
2004	1/2	6,30	9,28	18,56
2006	1/4	9	23,97	95,88
2007	1/2	8	18,54	37,06
2009	1/4	8	18,54	74,16
3002	1/3	6,80	0,21	0,63
3008	1/2	7	0,52	1,04
3009	1/2	8,50	2,04	4,08
3015	1/3	6,70	0,36	1,08
3017	1/2	6,20	8,73	17,46
3018	1/2	8	0,43	0,86
3019	1/2	7	0,52	1,04
3022	1/2	6,70	0,36	0,72
3024	1/2	7,50	1,31	2,62
4002	1/2	8	0,67	1,34

4004	1/2	7	0,64	1,28
4006	1/2	6,70	0,36	0,72
4008	1/2	7	13,08	26,16
4012	1/2	6,30	0,98	1,96
4015	1/2	9	5,68	11,36
4018	1/2	6,30	9,28	18,56
4019	1/2	7,55	0,062	0,121
4020	1/2	10	2,07	4,14
4024	1/2	6,20	8,73	17,46
5001	1/2	8	18,54	37,08
5002	1/2	9	23,97	47,94
5003	1/3	10	29,41	88,23

La valeur de Y est obtenue en remplaçant x par sa valeur dans l'équation de la forme $Y = Ax + B$ (R = facteur de corrélation) donnée par la droite de corrélation de la courbe.

Concentration moyenne pour chaque antibiotique :

- Amoxicilline C = 2,21 mg/l
- Amoxi-clav. C = 1,18 mg/l
- Céfotaxime C = 11,36 mg/l
- Spiramycine C = 43,82 mg/l
- Erythromycine C = 1,34 mg/l
- Ciprofloxacine C = 23,06 mg/l
- Cotrimoxazole C = 1,33 mg/l
- Gentamicine C = 1,2 mg/l

Tableau XIII : Résultats du dosage des différents antibiotiques dans les expectorations de J₁₀ à J₁₅

Numéro prélèvement	Facteurs de dilution (fd)	Diamètre obtenu X (mm)	Y (valeur après calcul)	Concentration C = Y.f _d
1002	1/2	6,50	0,18	0,36
1003	1/2	9,50	0,60	1,2
1004	1/2	6,50	10,36	20,72
1009	1/4	8,50	0,84	3,36
1010	1/2	6,50	2,34	4,68
1012	1/2	7	13,08	26,17
1014	1/2	7,50	0,47	0,94
1018	1/4	10	29,41	117,66
1019	1/2	6,30	9,28	18,56
1021	1/2	7	0,64	1,28
1023	1/2	6,70	0,36	0,72
1024	1/4	7	0,64	2,56
2006	1/4	6,20	8,73	34,92
3002	1/3	7	0,52	1,56
3008	1/2	7,50	1,31	2,62
3009	1/2	6,70	0,36	0,72
3015	1/3	8	0,43	1,29
3017	1/2	6,20	8,73	17,46
3018	1/2	6,50	10,36	20,72
3019	1/2	8,50	0,84	1,68
3022	1/2	7,60	0,11	0,22
3024	1/2	10	2,07	4,14
4002	1/3	6,20	8,73	26,19
4012	1/2	7	5,74	11,48
4015	1/3	7,50	0,47	1,41
4018	1/2	8,	18,53	37,06
4019	1/2	8	0,43	0,86
4021	1/2	10	3,53	7,06
4022	1/2	8	2,21	4,42
4024	1/2	8	18,53	37,06

Concentration moyenne pour chaque antibiotique :

- Amoxicilline C = 1,41 mg/l
- Amoxi-clav. C = 1,92 mg/l
- Céfotaxime C = 2,26 mg/l
- Spiramycine C = 35,65 mg/l
- Erythromycine C = 7,06 mg/l
- Ciprofloxacine C = 8,08 mg/l
- Cotrimoxazole C = 2,09 mg/l
- Gentamicine C = 1,2 mg/l

Nous avons remarqué que les concentrations d'antibiotiques de J₃ à J₅ et celles de J₁₀ à J₁₅ ont été pratiquement égales pour certains antibiotiques. Pour d'autres nous avons noté une différence découlant certainement du nombre de patients parfois plus faible parfois, ceci a montré que la concentration ne semble pas diminuer avec le temps du moment que la posologie a été la même.

Tableau XIV : Résultats du dosage des différents antibiotiques dans le sérum des patients

Numéro prélèvement	Jour prélèvement	Antibiotique prescrit	X = diamètre obtenu	Y (valeur après calcul)	C°
1002	J ₁₀	Amoxicilline 2 g/j Po	7	1,30	1,30
1003	J ₁₀	Genta 160 mg/j IV	9	2,72	2,72
1009	J ₁₀	Amoxi-clav. 2 g/j Po	7	1,22	1,22
1010	J ₃	Amoxi-clav. 2 g/j Po	6,30	0,057	0,057
1011	J ₃	Amoxicilline 2 g/j Po	6,70	0,81	0,81
1019	J ₄	Spiramycine 2 g/j	7	5,18	5,18
1021	J ₄	Amoxi-clav. 2 g/j Po	6,50	0,39	0,39
1025	J ₃	Amoxi-clav. 2 g/j Po	8	2,87	2,87
1027	J ₄	Ciprofloxa 400 mg	7	2,52	2,52
2004	J ₅	Spiramycine 2 g/j Po	8	9,89	9,89
2006	J ₅	Spiramycine 2 g/j Po	7,50	8,03	8,03
2007	J ₃	Spiramycine 2 g/j Po	6,50	4,33	4,33
2009	J ₄	Spiramycine 2 g/j Po	6,30	2,6	2,6
3002	J ₃	Cotrimox 500 mg/j Po	9	7,12	7,12
3008	J ₁₀	Cotrimox 500 mg/j IV	7	1,03	1,03
3009	J ₃	Cotrimox 500 mg/j Po	8	4,08	4,08

Pour les sérums, il n'y a pas eu de dilution et les concentrations moyennes obtenues ont été :

- Amoxicilline C = 1,05 mg/l
- Amoxi-clav. C = 1,13 mg/l
- Spiramycine C = 6,006 mg/l
- Ciprofloxacine C = 2,52 mg/l
- Cotrimoxazole C = 4,08 mg/l
- Gentamicine C = 2,72 mg/l

Tableau XV : Concentrations d'antibiotiques dans les sérums et les expectorations des patients

Antibiotiques	Nombre de patients	Doses	MA	Moyennes concentrations en mg/l	
				sériques	expectorations
Amoxicilline	11	2 g/j	Po	1,05	1,81
Amoxi-clav.	11	2 g/j	Po	1,13	1,55
Céfotaxime	3	1 g/j	IM	ND	6,81
Spiramycine	18	2 g/j	Po	6,006	39,73
Érythromycine	2	2 g/j	Po	ND	4,20
Ciprofloxacine	3	1 g/j	Po	2,52	15,57
Cotrimoxazole	4	500 mg/j	IV / Po	4,08	1,71
Gentamicine	1	160 mg/j	IV	2,72	1,20
<i>ND : non déterminé</i>		<i>MA : mode d'administration</i>			

Nous avons noté avec les données du tableau que les macrolides et les fluoroquinolones ont atteint des concentrations intrapulmonaires supérieures aux taux sériques correspondants. Pour le cotrimoxazole et la gentamicine, les concentrations pulmonaires sont restées inférieures aux valeurs plasmatiques, alors que pour les bêtalactamines, les concentrations pulmonaires se sont équilibrées plus ou moins avec les taux sériques.

Rappelons qu'il s'agit de concentration moyenne entre J₃ à J₅ et J₁₀ J₁₅ dans les expectorations et la concentration moyenne dans le sérum.

Selon l'antibiotique considéré, ces concentrations sériques nous ont donné une idée sur l'effet toxique du médicament.

II.4- QUOTIENTS INHIBITEURS DE DIFFÉRENTS ANTIBIOTIQUES UTILISÉS VIS À VIS DES SOUCHES ISOLÉES.

Tableau XVI : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	0,50	3,62
Amoxi-clav.	1,55	0,064	24,22
Céfotaxime	6,81	0,25	27,24
Spiramycine	39,73	0,50	79,46
Erythromycine	4,20	0,125	33,60
Cotrimoxazole	1,71	1	1,71

L'amoxicilline et le cotrimoxazole ont donné les quotients inhibiteurs les plus petits. Pour les autres antibiotiques le quotient inhibiteur obtenu est supérieur à 10, ce qui a attesté leur efficacité clinique sur cette souche.

Tableau XVII : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Haemophilus influenzae*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Haemophilus influenzae</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	1,5	1,21
Amoxi-clav.	1,55	1	1,55
Céfotaxime	6,81	0,38	17,92
Spiramycine	39,73	256	0,15
Erythromycine	4,20	32	0,13

Seul le céfotaxime a donné un quotient inhibiteur supérieur à 10. Il a été efficace cliniquement contre cette souche aux doses prescrites. La spiramycine et l'érythromycine qui ont donné des CMI₉₀ très élevées, n'ont pas été efficaces aux doses thérapeutiques.

Tableau XVIII : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Haemophilus parainfluenzae*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	16	0,11
Amoxi-clav.	1,55	16	0,09
Céfotaxime	6,81	96	0,07
Spiramycine	39,73	256	0,15
Erythromycine	4,20	128	0,03

Aucun des antibiotiques n'a donné un quotient inhibiteur élevé, la souche a résisté à ces antibiotiques aux doses prescrites.

Tableau XIX : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Escherichia. coli*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>E. coli</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	256	0,007
Amoxi-clav.	1,55	256	0,006
Céfotaxime	6,81	256	0,026
Cotrimoxazole	1,71	0,125	13,68
Ciprofloxacine	15,57	0,125	124,56

Seuls le cotrimoxazole et la ciprofloxacine ont eu un quotient inhibiteur supérieur à 10, d'où leur efficacité. Les bêtalactamines ont montré leur inefficacité en donnant des quotients inhibiteurs trop faibles.

Tableau XX : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Moraxella catarrhalis*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Moraxella catarrhalis</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	48	0,037
Amoxi-clav.	1,55	0,5	3,1
Céfotaxime	6,81	1	6,81
Spiramycine	39,73	0,5	79,46
Erythromycine	4,20	0,5	8,40
Gentamicine	1,20	0,5	2,40

Les macrolides ont été très efficaces, l'amoxicilline a révélé son inefficacité contre cette souche en donnant une CMI₉₀ très élevée d'où le faible quotient inhibiteur obtenu.

Tableau XXI : Quotients inhibiteurs obtenus vis à vis de *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Staphylococcus aureus</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	256	0,007
Amoxi-clav.	1,55	128	0,12
Céfotaxime	6,81	3	2,27
Spiramycine	39,73	4	9,93
Erythromycine	4,20	2,5	1,68
Ciprofloxacine	15,57	32	0,48

La spiramycine seule a donné un quotient inhibiteur élevé, il peut être considéré comme efficace. L'amoxicilline avec sa CMI₉₀ très élevée a donné un quotient inhibiteur très faible.

Tableau XXII : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	512	0,003
Amoxi-clav.	1,55	256	0,006
Céfotaxime	6,81	32	0,21
Ciprofloxacine	15,57	0,094	165,63
Cotrimoxazole	1,71	0,38	4,5

Seul la ciprofloxacine a été cliniquement efficace, tandis que les bêtalactamines se sont montrés inefficaces.

Tableau XXIII : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Bacteroides fragilis*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Bacteroides fragilis</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	64	0,028
Amoxi-clav.	1,55	16	0,096
Spiramycine	6,81	1,5	26,48
Ciprofloxacine	15,57	3	5,19

La spiramycine a été efficace, les autres antibiotiques ont donné un quotient inhibiteur faible, d'où leur inefficacité.

Tableau XXIV : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Streptococcus mitis*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Streptococcus mitis</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	3	0,60
Amoxi-clav.	1,55	2	0,77
Céfotaxime	6,81	3	2,27
Spiramycine	39,73	32	1,24
Ciprofloxacine	15,57	32	0,48
Cotrimoxazole	1,71	6	0,28

Cette souche a été résistante aux concentrations d'antibiotiques obtenues. Les bêtalactamines qui ont les CMI₉₀ les plus faibles ont donné des quotients inhibiteurs faibles pour obtenir une efficacité.

Tableau XXV : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Streptococcus sanguis*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Streptococcus sanguis</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	0,094	19,25
Amoxi-clav.	1,55	0,047	32,98
Céfotaxime	6,81	0,50	13,62
Spiramycine	39,76	32	1,24
Cotrimoxazole	1,71	32	0,053

Les bêtalactamines ont montré leur efficacité avec des quotients inhibiteurs élevés, contrairement aux spiramycine et cotrimoxazole qui ont été inefficaces, vu leur quotient inhibiteur.

Tableau XXVI : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Provotella oralis*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Provotella oralis</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	1	1,81
Céfotaxime	6,81	0,125	54,48
Ciprofloxacine	15,57	3	5,19

Seul le céfotaxime a été efficace contre cette souche parmi ces antibiotiques.

Tableau XXVII : Quotients inhibiteurs obtenus avec *Actinomyces spp*

Antibiotiques	Concentrations intrapulmonaires mg/l	CMI ₉₀ mg/l <i>Actinomyces sp</i>	Quotient inhibiteur : C / CMI ₉₀
Amoxicilline	1,81	16	0,11
Amoxi-clav.	1,55	16	0,096
Spiramycine	39,73	1,5	26,48
Ciprofloxacine	15,57	0,002	7785

La ciprofloxacine a été très efficace de même que la spiramycine, mais les Bêtalactamines ont été inefficaces.

C- DISCUSSION

I - METHODE DE DOSAGE

Le dosage microbiologique est une méthode qui utilise comme l'antibiogramme standard, le principe de diffusion en gélose après 18 heures d'incubation. Elle compare les zones d'inhibition d'une culture bactérienne de l'échantillon de sérum ou d'expectoration à celles provoquées par une gamme étalon de l'antibiotique.

I.1 - AVANTAGES

Elle est simple à réaliser, peu onéreuse, elle dose tous les antibiotiques ; elle dose l'antibiotique actif et non les métabolites inactifs. Sa spécificité dépend de la souche bactérienne test. La connaissance des concentrations d'antibiotiques dans les sécrétions respiratoires apporte une information exploitable sur la quantité d'antibiotique potentiellement active dans la lumière bronchique [16, 17, 24].

I.2 - LIMITES

La méthode a une sensibilité bonne mais ne dépassant pas 1 mg/l. Elle exige des contrôles rigoureux et répétés [16, 22]. Elle est limitée par les interférences médicamenteuses lors d'antibiothérapie mixte, ce qui est le cas le plus fréquent en milieu hospitalier dans les infections très sévères.

Les sécrétions bronchiques constituent un matériel complexe, hétérogène, variable quant au volume et à la composition.

Une inactivation de certains antibiotiques peut être liée à la présence dans les sécrétions de pus, de polynucléaires et divers débris cellulaires. La production de sécrétions peut varier d'un jour à l'autre au sein d'un groupe théoriquement homogène de patients. Ces variations de volume introduisent un facteur de dilution inconnu. [16, 17, 19, 37]

I.3 - AUTRES MÉTHODES

D'autres méthodes non microbiologiques sont applicables aux dosages d'antibiotiques ; elles ont pour avantages leur précision, reproductibilité, sensibilité et rapidité.

Elles utilisent des techniques radio-enzymatiques, immunologiques ou chromatographiques.

II - ANALYSE DES RESULTATS ET SIGNIFICATION CLINIQUE

II.1 - ANALYSE DES RÉSULTATS

Il a été difficile de comparer les résultats que nous avons obtenu avec ceux des autres auteurs, même si les méthodes de dosages microbiologiques se développent, elles répondent souvent à des objectifs variés et il n'est pas toujours possible de les comparer les unes des autres.

Il est ressorti de notre étude que parmi les souches les plus incriminées dans les infections respiratoires basses communautaires nous avons *Streptococcus pneumoniae* , *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides fragilis*, *Moraxella catarrhalis*, *Actinomyces sp*, *Streptococcus sp*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*.

Dans la littérature également beaucoup d'auteurs ont montré la fréquence de ces germes dans ces infections [1, 3, 5, 24, 27].

S'agissant de l'antibiothérapie notre étude a porté sur : l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la spiramycine, l'érythromycine, la ciprofloxacine, le cotrimoxazole, qui sont des molécules utilisables en première intention comme l'ont indiqué certains auteurs dans plusieurs consensus. [1, 3, 4, 9, 10, 11, 46].

Les quotients inhibiteurs que nous avons obtenu nous ont donné une idée sur le choix porté sur ces molécules quant à leur efficacité. Les concentrations d'antibiotiques trouvées dans le sérum ont été inférieures aux concentrations

maximales ou pics sériques. Ces résultats ont montré l'absence d'effets toxiques dus à l'accumulation du produit, aux doses thérapeutiques utilisées.

A des doses très faibles, on pourrait s'attendre à des résistances comme l'ont révélé certains auteurs. [25, 26, 44, 45]

II.2 - SIGNIFICATION CLINIQUE

L'appréciation de l'efficacité repose sur la détermination du quotient inhibiteur ou index inhibiteur défini par le rapport entre la concentration d'antibiotiques obtenu dans un liquide biologique ou dans un tissu particulier et la CMI₉₀ de l'agent pathogène en question.

En règle générale, un antibiotique est considéré comme efficace cliniquement si son quotient inhibiteur est supérieur à 10. Il est clair aussi que des taux d'antibiotiques faibles ne sont pas toujours synonymes d'inefficacité, en effet le quotient inhibiteur dépendra de la CMI₉₀ trouvée et il peut être élevé avec ces taux faibles.

Selon sa diffusion, l'antibiotique peut donner des concentrations sériques supérieures ou non aux concentrations pulmonaires. Ainsi selon le comportement du germe intracellulaire ou non, l'efficacité dépendra du type d'antibiotique comme l'ont décrit WISE R. [49] et HUCHON et al. [20].

Les macrolides et les quinolones sont très actifs contre ces germes intracellulaires.

Des concentrations locales élevées ne constituent pas toujours une garantie d'efficacité thérapeutique. Selon BERGOGNE - BEREZIN E. [5] de nombreux facteurs généraux (pathologie associée, état immunitaire) et locaux peuvent interférer avec l'activité de l'antibiotique au site infectieux.

Les résultats que nous avons obtenus peuvent dans certains cas justifier le choix porté sur certaines molécules, ainsi quelques données concernant ces molécules sont obtenues :

- **Activité des bêtalactamines**

- **Sur le pneumocoque**

Les bêtalactamines ont donné des quotients inhibiteurs supérieurs à 10 contre le pneumocoque à l'exception de l'amoxicilline. Dans des études récentes [1, 4, 33] l'amoxicilline a été pourtant habituellement préconisé dans le traitement des pneumonies chez l'adulte sans facteur de risque ni signe de gravité, à la posologie de 1g x 3/j per os. Nous avons pu expliquer l'inefficacité révélée par nos résultats par le fait que nous avons affaire à des patients avec facteurs de risque ou avec signe de gravité, ou par le fait que la posologie utilisée (2g/j) a été faible pour être efficace.

En ce qui concerne l'amoxicilline-acide clavulanique et le céfotaxime nos résultats ont confirmé l'efficacité dont ont fait état certains auteurs et qui souhaiteraient que ces molécules ne soient pas utilisées en première intention mais réservées aux situations d'échec.[3, 4, 20].

- **Sur *H. influenzae*, *Haemophilus spp.* et *Moraxella catarrhalis***

Ce sont des bactéries de la flore oro-pharyngée qui peuvent être responsables de pneumonies précoces et des exacerbations de bronchite chronique. D'après nos résultats seul le céfotaxime a montré une efficacité clinique contre *H. influenzae* avec un quotient inhibiteur supérieur à 10. Vis à vis de *H.parainfluenzae* et *M. catarrhalis*, l'amoxicilline le céfotaxime et l'amoxicilline-acide clavulanique se sont révélés inefficaces. Néanmoins ils ont eu une meilleure activité sur *Haemophilus* que les autres antibiotiques dosés qui ont donné des CMI₉₀ très élevés. Nous avons pensé que l'inefficacité obtenue est due à une posologie faible comparée à celles indiquées dans les différents consensus [11, 20, 35, 38].

- Sur les autres germes

Les bêtalactamines ont eu une grande efficacité sur *Streptococcus sanguis* avec des quotients inhibiteurs très élevés, mais certains ont montré une inefficacité contre les autres souches étudiées notamment *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. fragilis* et *Actinomyces sp.* Le céfotaxime a été très efficace contre *Prevotella oralis*, ces résultats sont conformes à la littérature [1, 3, 4] qui oriente vers les macrolides ou quinolones quand des bacilles à Gram négatifs (BGN), des germes intracellulaires, des germes anaérobies ou des entérobactéries sont retrouvés.

• **Activité des macrolides : spiramycine et érythromycine**

Nos résultats ont montré que la spiramycine et l'érythromycine ont été efficaces contre *S. aureus*, *B. fragilis*, *Actinomyces* et *Moraxella*. Ils ont donné les concentrations pulmonaires les plus élevées notamment avec la spiramycine qui a donné un taux d'environ 40 mg/l. Ces résultats ont été confirmés à ceux de certains auteurs contenus dans des publications récentes [8, 42, 49].

RUBINSTEIN E. et KELLER N. [42] ont obtenu des concentrations pulmonaires 10 à 20 fois supérieures aux taux sériques dont la Cmax a atteint des valeurs comprises entre 0,4 et 1,4 mg/l après une prise orale de 2 g/j pendant 10 jours. Ils ont démontré une efficacité de 76% pour la spiramycine et 63% pour l'érythromycine chez des patients adultes.

BROOK I. [8] lui a obtenu vis à vis du streptocoque du groupe A un quotient inhibiteur de 70 pour l'érythromycine et de 125 pour la spiramycine.

Dans notre étude nous avons trouvé un quotient inhibiteur de 79 pour la spiramycine et de 33 pour l'érythromycine vis à vis du streptocoque. D'autres études ont confirmé l'efficacité des macrolides dans les infections respiratoires basses [1, 3, 11, 20, 24, 50].

- **Les autres molécules**

- La ciprofloxacine a donné un quotient inhibiteur de 165 avec *Klebsiella pneumoniae*, un quotient inhibiteur de 125 avec *E. coli* et un quotient inhibiteur de 7785 avec *Actinomyces sp.* Ceci a démontré son efficacité contre les BGN et la littérature fait état de cette activité [1, 6, 47].

- Le cotrimoxazole a donné un quotient inhibiteur de 14 avec *E. coli* ce qui démontre une efficacité confirmée dans beaucoup de publications [1,3,27]

- La gentamicine, comme l'a montré nos résultats, a fait preuve d'une inefficacité dans ces infections. Il ne fait pas parti des médicaments cités dans les consensus [1, 3, 6] pour être utilisable dans ces infections, ce qui confirme nos résultats.

CONCLUSION

Au cours de certaines infections sévères comme les infections respiratoires basses, un traitement rigoureusement efficace s'impose. Alors les molécules bactéricides in vitro disponibles en thérapeutique sont nombreuses, mais ce comportement in vitro ne reflète pas toujours la réalité in vivo.

L'antibiogramme classique ne permet que de suivre le comportement in vitro de la bactérie vis à vis de l'antibiotique. Pour démontrer l'efficacité et constituer une documentation utile pour la prescription empirique, des investigations s'avèrent nécessaires. Ainsi notre étude apporte une contribution à ce problème, par la détermination de la concentration d'antibiotique obtenue in situ et la confrontation de ces taux avec les données bactériologiques (CMI₉₀ de la souche isolée). La méthode utilisée est le dosage microbiologique par diffusion en milieu gélosé. Nos résultats montrent que les souches les plus incriminées sont : *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Staphylococcus aureus* et autres *Streptococcus*.

A cet effet nous proposons une antibiothérapie utilisable en première intention et l'alternative éventuelle en cas d'échec.

- Ainsi chez le patient jeune ou âgé sans signe de gravité, l'amoxicilline peut être recommandée ou en alternative un macrolide et mieux la spiramycine.
- Chez un sujet à risque ou présentant une co-morbidité, le choix à préconiser est l'amoxicilline-acide clavulanique ou une céphalosporine de 3^e génération en l'occurrence le céfotaxime. L'Amoxicilline à dose majorée, l'amoxicilline-acide clavulanique ou le céfotaxime peuvent être recommandés s'il existe une présomption du pneumocoque. Le risque d'une infection à germe intracellulaire peut inciter à prescrire un macrolide ou une fluoroquinolone.
- Chez un sujet avec signe de gravité, nous préconisons un antibiotique à large spectre (bêtalactamines, macrolides, quinolones) à

dose majorée ou une antibiothérapie par voie injectable. De même une bithérapie pourrait être une alternative.

Outre cette éventuelle antibiothérapie dont l'efficacité a été prouvée, notre étude fait état d'une méthode d'évaluation d'un quelconque traitement prescrit dans ces types d'infections ou dans d'autres.

De même c'est une autre méthode d'apprécier la toxicité d'un produit par comparaison des taux obtenus avec les pics sériques ; parfois cette méthode est couplée avec la détermination de la créatininémie explorant l'activité rénale.

Ainsi, la collaboration entre cliniciens et microbiologistes est indispensable pour une meilleure prescription des antibiotiques. Le coût élevé de l'antibiothérapie et l'émergence des souches résistantes méritent l'adoption d'une politique générale de prescription des anti-infectieux adaptée à la situation locale (type de pathologie, écologie microbienne).

Le laboratoire joue un rôle important en épidémiologie, pour rationaliser l'utilisation massive des antibiotiques. L'intérêt des tests de laboratoire n'est réel que s'ils sont effectués sur la base de renseignements cliniques précis et demandés par des médecins praticiens avertis, possédant une bonne connaissance de la microbiologie médicale, du spectre et de la pharmacocinétique des différents antibiotiques proposés.

En effet, dans un nombre important de cas, en ville comme à l'hôpital, raisons matérielles ou situation d'urgences imposent un traitement empirique ; le clinicien doit donc connaître les micro-organismes provoquant le plus probablement l'infection et choisir l'antibiotique actif a priori sur eux, sans toutefois abuser des molécules à large spectre dont on connaît la responsabilité dans l'induction de la résistance.

BIBLIOGRAPHIE

1. **AFSPS** (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) :
Infections respiratoires basses de l'adulte : pneumonie communautaire et bronchite aiguë.
Méd. Mal. Infect. 1999 ; 29 : 237 - 57
2. **ANDREMONT A.**
Antibiotiques : données générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance.
Rev. Prat. (Paris) 1993, 43, 19, pp 2545 - 50
3. **BADIAGA S., NIANG M., DEBAT-ZOQUEREH D., BROUQUI P.**
Pneumopathies communautaires bactériémiques à *H. influenzae*, chez les adultes non immuno-déprimés, à propos de 2 cas.
Méd. Mal. Infect. 1999, 29, pp 117 - 20
4. **BEDOS JP., LEOPHONTE P.**
Expérience clinique du traitement par l'amoxicilline des pneumonies à pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline.
Méd. Mal. Infect. 1997, 27 : 58 - 67
5. **BERGOGNE-BEREZIN E.**
Pharmacocinétique des antibiotiques dans les voies respiratoires inférieures ; limite de l'apport de cette information.
Méd. Mal. Infect 1992, 22, spécial pp103 - 11
6. **BERGOGNE-BEREZIN E.**
Prévention des infections aux âges extrêmes de la vie.
La Presse Médicale, juin 1998 / 27 / suppl. n°3 pp 16 - 19
7. **BERT. F., LAMBERT-ZECHOVSKY N.**
Bactéries isolées des prélèvements bronchopulmonaires protégés : variation en fonction de la durée de séjour préalable en Réanimation.
Path. Biol. 1998, 46 n°6 pp 380 - 84

8. BROOK I.

Pharmacocinétique clinique de la spiramycine.

Clin. Pharmacokinet. 1998, Apr 34 (4) pp 303 - 10

9. CAMBAU E.

Antibiotiques : Données Générales sur les Modes d'action et les Mécanismes de Résistance.

Art. 46 (19) 1996, pp 2343 - 44

10. CARLET J., TIMSIT J.F.

Influence des bonnes pratiques de prescription des antibiotiques sur la multirésistance bactérienne.

Actualités en Réanimation et Urgence 1999, pp 158 - 67

11. CARRE PH.

Pneumopathies communautaires non tuberculeuses en pratique de ville, quand hospitalisés, quels examens complémentaires, quels traitements ?

Méd. Mal. Infect 1998 : 28 : pp 599 - 603

12. DESCHILDRE A., LECLERC F.

Broncho-alvéolite du nourrisson, Diagnostic, Traitement

Rev. Prat. (Paris) 1993, 43, 19 pp 2551 - 55

13. DUBREUIL L.

Place des bactéries anaérobies dans la pathologie respiratoire communautaire.

Presse - Méd. 1998, sep, 27 Suppl 4 : 10 -11

14. GARCIA J.

Épidémiologie des infections bronchopulmonaires aiguës de l'enfant.

La Revue du Praticien (Paris) 1996, 46, n°17 pp 2056 - 61

15. GENDREL D.

Stratégie antibiotique dans les infections respiratoires basses de l'enfant.

La Revue du Praticien (Paris) 1996, 46, n°17 pp 2099- 03

16. GERBAL R.

Rôle du laboratoire dans l'antibiothérapie.

Encycl. Méd. Chir. 6, 1990, 2^e édition pp 01 - 07

17.GUERIN JM.

Optimisation de l'antibiothérapie curative à l'hôpital.

Presse - Méd. 1999, jan 9 ; 28 (1) : 20 - 28

18.GUIBERT J.

Les macrolides.

Encycl. Méd. Chir. (Paris France), Maladies Infectieuses 8004-G¹⁰, 6, 1985 : 8

19.GUILLEMOT D.

Les antibiotiques sont - ils surconsommés ?

Revue du Praticien (Paris) 1998, 48 : 585 - 86

20.HUCHON G.

Conduite à tenir devant une infection respiratoire basse communautaire de l'adulte.

Rev. Mal. Respir. 1999, 16, pp 224 - 33

21.INIGUEZ J.L.

Pneumopathie à *C. pneumoniae* et à *M. pneumoniae* chez l'enfant.

Arch-Pédiatr. 1998 ; 5 Suppl. 1 : 18 - 21

22.JUPEAU -VESSIERES A., SCAVIZZI M.

Sensibilité des bactéries aux antibiotiques : Méthodes d'étude en biologie clinique.

Encycl. Méd. Chir. (Paris) Maladies Infectieuses 8005 A³⁰, 9 - 1990, 11p.

23.LEOPHONTE P.

Prise en charge des IRB communautaires, ce que nous apporte la clinique.

Presse - Méd. Sep. 1998 /27/ suppl. n°4 : 5 - 8

24.LUCET JC.

Lutte contre les bactéries multirésistantes.

Rev-Prat. 1998 sep 15 : 48 (14) : 1541 - 46.

25.MAINARD JC., GUTMANN L.

Mécanisme de résistance des bactéries responsables d'infections nosocomiales.

Pat. Biol., 1998, 46, n°4 pp 253 - 59.

26.MARIANI - KURKDJIAN P., BINGEN E.

Nouveaux spectres de résistance des principaux germes des voies respiratoires aériennes.

Arch. Pédiatr. 1998 ; 5 suppl.1, pp 14 - 17.

27.MAYNAUD C.

Épidémiologie des IRB aiguës de l'adulte : rôle du *Chlamydia pneumoniae* et de *Mycoplasma pneumoniae*.

La Presse Médicale, sep 1997 / 26 / n°26 pp 1248 - 53.

28.MAYNAUD C., PARROT A.,HOUACINE S., DENIS M., AKOUN G.

Épidémiologie des germes responsables des infections chroniques des voies respiratoires inférieures.

Méd. Mal. Infect. 1992 ; 2 ; spécial ; pp 130 - 39.

29.MC BRIDE-MD, PAYNE MA., UTTERBACK-WW, BREITMEYER-RE, ALBERG-L,MARTIN-D. et CULLOR J.

Specificity of assays used by regulatory agencies to detect antibiotic residues in tissues of culled dairy cows.

J-Am-Vet-Med-Assoc. 1999 Apr 1 ; 214 (7) : 1048 - 50.

30.MODAI J.

Céphalosporines orales : Nouveautés et place en thérapeutique.

Rév. Prat. (Paris) 1993, 43, 2, pp 195 - 99.

31.MOUTON Y., BIGNOLAS G., CHIDIAC C., DECAZES JM., GEHANNO P. et groupe de travail.

Recommandations sur la prise en charge de la pathologie infectieuse respiratoire.

Med. Mal. Infect., 1995 ; 25 ; pp 1021 - 28.

32.MOUTON Y., DEBOSKER Y.

Les bêtalactamines.

Encycl. Méd. Chir., (Paris) Maladies Infectieuses, 8004 C¹⁰, 2 - 1983: pp 1 - 22

33.PAGANIN F.

Pneumonies communautaires dans la région de Montpellier : Augmentation des pneumocoques de sensibilité diminuée aux pénicillines (PSDP).

Presse Médicale, oct 1995, 24, n°29 : 1341 - 44.

34.PASDELOUP T., ROBLOT F., AUCHER PH., FAUCHERE JL. Et BECQ-GIRAUDON B.

Infections à pneumocoques observées au CHU de Poitiers dans la population adulte ; étude épidémiologique et clinique.

Presse Médicale, 1998 ; 27 ; pp 653 - 57.

35.PEAN Y., GOLDSTEIN I.W., GUERRIER M.L. et groupe de travail

Activités des antibiotiques sur *S. pneumoniae*, *H. influenzae* et *B. catarrhalis* isolés de l'infection respiratoire et ORL en France ; résultats d'une enquête multicentrique.

Méd. Mal. Infect. 1998 ; 28 ; pp 253 - 57.

36.PIETTE JC., JARLIER V. et GROSSET J.

Chapitre 7 : Les Antibiotiques.

Traité de Médecine 2^e édition, tome II pp 3620 - 21.

37.REAMER-RH., DEY-BP ; WHITE-CA ; MAGEAU-RP.

Comparison on monolayer and bilayer plates used in antibiotic assay.

J. AOAC-int. 1998 Mar-Apr ; 81 (2) : 398 - 402.

38.Recommandations de la quatrième conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF).

Les infections des voies respiratoires, Lille 18 Octobre 1991.

Méd. Mal. Infect. 1992 pp 43 - 46.

39.Recommandations de la (SPILF).

Recommandations pour la prise en charge des BPCO.

Rev. Mal. Respir., 1997 ; 14 : 2 - 11.

40.Recommandations de l'Agence du Médicament.

Antibiothérapie par voie générale en pratique courante : infections ORL et respiratoires basses.

Presse -Méd. 1999 Mars 13 ; 28 (10) pp 542 - 44.

41.REVEL R., LESAGE D., PETIT JC.

Pneumopathies infectieuses bactériennes : Aspects cliniques et Diagnostiques.

Feuillets de biologie, 1996 - Vol. XXXVII n° 210 pp 17.

42.RUBINSTEIN E. et KELLER N.

La Renaissance de la spiramycine.

Journal of antimicrobial Chemotherapy (JAC), 1998 ; 42 ; pp 572 - 76.

43.SOTTO A., PORNEUF M., BARBUAT C., RIBOU G. et JORDAN J.

Pneumopathies communautaires diagnostiquées en milieu hospitalier. Prise en charge médicale pré-hospitalière à propos de 100 cas.

Méd. Mal. Infect. 1995 ; 25 ; *RICAI* : 773 - 75.

44.STERNON J., GLUPCZYNSKI Y.

La surconsommation des antibiotiques en pratique extra-hospitalière.

Rev. Méd. Brux. 1999 Feb ; 20 (1) pp 43 - 7.

45.SY K.R.

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Thèse, Phar., Dak, 1996 n°55.

46.TREMOLIERES F.

Antibiothérapie des infections ORL et respiratoires : De l'urgence des recommandations.

Presse-Méd. 1999 Feb 27 ; 28 (8) : 417 - 18.

47.VEYSSIER P.

Pneumopathies du sujet âgé institutionnalisé.

Presse-Méd. 1999 Jan 9, 28 (1) : 50 - 2.

48.WESTPHAL JF., BROGARD JM.

Dosage des antibiotiques : indications et utilisation pratique.

Presse-Méd. 1992 Juin, n° 23 : 1057 - 59.

49.WISE R.

Clinical pharmacokinetics of spiramycin.

Drugs investigation 6, 1993, suppl 1 : 29 - 34.

**50.WOODHEAD M., GIALDRONI-GRASSI G., HUCHON GJ.,
LEOPHONTE P., MANRESA F. et SCHABERG T.**

Use of investigations in lower respiratory tract infection in the community : a European survey.

Eur. Resp. J 1996 : 9 : 1596 - 600.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
1^{ère} PARTIE : GENERALITES	2
I - INDICATIONS DU DOSAGE	2
I.1- Prévention de l'inefficacite d'un traitement	2
I.2- Explication d'un échec thérapeutique.....	2
I.3- Prévention d'une toxicité.....	2
I.4- Cas particuliers	3
II - EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES COMMUNAUTAIRES	4
II.1 – <i>Définitions</i>	4
II.2 –Epidémiologie des pneumonies communautaires.....	4
II.3 – Epidémiologie des bronchites aiguës (BA)	5
III - ANTIBIOTHERAPIE DANS LES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES	6
III.1 - Antibiothérapie dans les pneumonies communautaires	6
III.2 - Antibiothérapie dans les bronchites aiguës.....	7
IV - NOTIONS DE PHARMACOCINETIQUE ET DE PHARMACODYNAMIE	9
IV.1 – Notions de pharmacocinétique.....	9
IV.1.1 – <i>Mode d'administration</i>	9
IV.1.2 – <i>La diffusion</i>	9
IV.1.3 – <i>Transformation et Elimination</i>	10
IV.1.4 – <i>Pharmacocinétique à doses réitérées</i>	11
IV.1.5 – <i>Effet post-Antibiotique</i>	11
IV.1.6 – <i>Quotient inhibiteur</i>	11
IV.1.7 – <i>Antibiotiques « dose et temps dépendants »</i>	11
IV.2 – Pénétration de l'antibiotique au sein du foyer infectieux	12
IV.2.1 – <i>Condition Anatomique du foyer</i>	12
IV.2.2 – <i>Siège de l'infection</i>	12
IV.3 – Principaux paramètres.....	13
2^{ème} PARTIE :TRAVAIL PERSONNEL	15
A- MATERIEL ET METHODES :	15
I - MATÉRIELS ET RÉACTIFS	15
I.1 - Antibiotiques dosés :	15
I.2 - Prélèvements :.....	16
I.3- Détermination concentration (dosage).....	17
I.3.1- <i>Matériels</i>	17
I.3.2- <i>Réactifs</i>	18
I.4- Substance de référence :	18
I.4.1- <i>Matériel pour la préparation:</i>	18
I.4.2- <i>Réactifs</i>	18
I.5- Souche-test :	19
II - PRÉPARATIONS :	19
II.1- Préparation du milieu de culture :	19
II.2- Préparation de la gamme d'étalonnage :	19
II.3- <i>Préparation de l'inoculum</i> :	20

II.4- Contrôle de qualité :	20
III - METHODES :	21
III.1 - Dosage microbiologique :	21
<i>III.1.1 - Principe :</i>	21
<i>III.1.2 Technique :</i>	21
III.2 - Isolement et identification des souches bactériennes :	22
III.3 - Détermination CMI et CMI ₉₀ :	22
IV - FACTEURS INFLUENÇANT LE DOSAGE.	23
B- RESULTATS ET COMMENTAIRES	25
I- LES PRELEVEMENTS SELECTIONNES POUR LES DOSAGES	25
II- RESULTATS	27
II.1 - Gammes d'étalonnage pour les dosages dans les expectorations	27
II.2 - Gammes d'étalonnage pour les dosages dans le sérum	33
II.3 - Résultats des dosages	40
C- DISCUSSION	52
I - METHODE DE DOSAGE	52
I.1 - Avantages	52
I.2 - Limites	52
I.3 - Autres méthodes	53
II - ANALYSE DES RESULTATS ET SIGNIFICATION CLINIQUE	53
II.1 - Analyse des résultats	53
II.2 - Signification clinique	54
CONCLUSION	58
BIBLIOGRAPHIE	60

Figure 1 : Courbe d'étalonnage : Amoxicilline / Expectations

Figure 2 : Courbe d'étalonnage : Amoxi-clav. / Expectations

Figure 3 : Courbe d'étalonnage : Céfotaxime / Expectations

Figure 4 : Courbe d'étalonnage : Ciprofloxacine / Expectations

Figure 5 : Courbe d'étalonnage : Spiramycine / Expectations

Figure 6 : Courbe d'étalonnage : Erythromycine / Expectations

Figure 7 : Courbe d'étalonnage : Cotrimoxazole / Expectations

Figure 8 : Courbe d'étalonnage : Gentamicine / Expectations

Figure 9 : Courbe d'étalonnage : Amoxicilline / Sérum

Figure 10 : Courbe d'étalonnage : Amoxi-clav. / Sérum

Figure 11 : Courbe d'étalonnage : Céfotaxime / Sérum

Figure 12 : Courbe d'étalonnage : Ciprofloxacine / Sérum

Figure 13 : Courbe d'étalonnage : Spiramycine / Sérum

Figure 14 : Courbe d'étalonnage : Erythromycine / Sérum

Figure 15 : Courbe d'étalonnage : Cotrimoxazole / Sérum

Figure 16 : Courbe d'étalonnage : Gentamicine / Sérum