

INTRODUCTION

En zone d'endémie, les maladies infectieuses sont couramment traitées après un simple diagnostic clinique sans l'aide d'un laboratoire pour un diagnostic de certitude et un antibiogramme qui sélectionne l'antibiotique le plus efficace sur la bactérie isolée.

Souvent l'effet bactériostatique d'un antibiotique est suffisant pour traiter une infection, en corrélation avec le système de défense de l'hôte (systèmes cellulaires et humoraux).

Par contre, lors des infections graves comme les endocardites, les ostéomyélites, les méningites ou encore au cours des immunodépressions, il y a nécessité d'une antibiothérapie rigoureusement bactéricide.

Tenir compte de ces considérations, sans perdre de vue un contexte d'antibiorésistance, rend difficile le choix d'un antibiotique.

C'est pourquoi il est intéressant de suivre le niveau de bactéricidie de molécules très souvent actives sur des souches multirésistantes.

C'est l'objectif de notre recherche, avec la détermination de la cinétique bactéricide de cinq bêtalactamines et de deux quinolones sur 90 souches (cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif) par la méthode de dilution en milieu liquide sur microplaque.

I- METHODE DE DETERMINATION DE LA BACTERICIDIE : EFFETS BACTERIOSTATIQUE ET BACTERICIDE D'UN ANTIBIOTIQUE (9-35-44)

L'action d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être caractérisée par deux paramètres : sa concentration minimale inhibitrice (CMI) et sa concentration minimale bactéricide (CMB).

1.1- Concentration minimale inhibitrice

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique inhibant en 18 à 24 heures la multiplication des bactéries (bactériostase). Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories : "sensible" ; "résistante" ; "intermédiaire".

- Une souche est dite sensible à un antibiotique lorsque sa CMI est inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique.

- Une souche est dite résistante lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte in vivo sans utiliser des doses toxiques.

- une souche a une sensibilité intermédiaire lorsque la CMI se situe entre ces deux valeurs extrêmes.

Pour la détermination de la CMI, on a recours à une méthode de dilution (micro ou macrodilution) ou à une méthode de diffusion ; ceci dans des conditions bien standardisées.

1.1.1 Méthode de dilution

a) Dilution en milieu liquide

C'est la méthode de référence, on distribue dans un premier temps, pour la macrodilution, dans une série de tube à hémolyses stériles ou pour la microdilution dans les cupules d'une plaque, sous un même volume, des concentrations décroissantes d'antibiotique puis on ajoute dans chacun des tubes ou cupules sous un même volume, une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance. La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant, après 18 à 24 heures de contact à 37°C, toute croissance visible à l'oeil nu.

b) dilution en milieux solide

Le principe de la technique est le même qu'en milieu liquide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu de culture solide (gélose).

1.1.1 Méthode par diffusion : (Disques)

Une boîte de milieu gélosé adéquat estensemencée avec une culture pure de l'organisme pathogène ; avant de mettre à incuber, on dépose sur le milieuensemencé, en différents endroits de la boîte, plusieurs petits disques de papier adsorbant, imprégnés chacun d'un antibiotique différent. Pendant l'incubation, l'antibiotique diffuse à partir des disques et une zone d'inhibition de la croissance apparaît autour de chaque disque contenant un antibiotique auquel l'organisme est sensible.

NB : Les conditions standards :

- milieu de culture Mueller-HINTON
- inoculum bactérien = à 10^6 bactériens/ml.

II CONCENTRATION MINIMALE BACTERICIDE

La CMB est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique détruisant après 18 heures de contact à 34°C 99,9 % d'une population bactérienne. La CMB est déterminée à partir de la CMI ; la méthode employée consiste à ensemercer, sur un milieu gélosé dépourvu d'antibiotique, une quantité définie de tous les tubes ou cupules ne présentant pas de trouble visible (Méthode de dilution) et à dénombrer les suivantes.

Le nombre de survivants est comparé au nombre des bactéries initialement présentes.

- Si le rapport CMB/CMI = 1 ou 2 l'antibiotique est dit bactéricide.
- Si le rapport CMB/CMI = 4 à 16 l'antibiotique est dit bactériostatique.
- La CMB d'un antibiotique est parfois éloignée de la CMI ; le rapport CMB/CMI supérieur ou égal 32 : on parle alors de tolérance des bactéries à l'antibiotique ; la tolérance exprime des isolats bactériens inhibés mais non détruits par des concentrations d'antibiotiques bactéricides ; il n'y a pas de modification de la CMI mais les bactéries échappent à l'action létale de l'antibiotique ; on observe un ralentissement du pouvoir bactéricide.

III FACTEURS ASSOCIES AUX EPREUVES DE BACTERICIDIE (44)

Les facteurs sont multiples et influencent la détermination in vitro de la bactéricidie ce qui rend difficile l'interprétation des résultats : il y a des facteurs biologiques et des facteurs techniques.

3 -1 Facteurs biologiques

Pour certains antibiotiques, comme ceux agissant sur la paroi bactérienne (bêtalactamines et VANCOMYCINE), on observe une absence de destruction complète des bactéries et leur survie même à des concentrations supérieures aux concentrations bactéricides. Pour qualifier ce phénomène on utilise les expressions suivantes :

- Présence de bactéries persistantes.
- Effet paradoxal ou phénomène de EAGLE
- Phénomène de Tolérance
- Résistance phénotypique.

3.1.1- Présence de bactéries persistantes

C'est la survie des bactéries à des concentrations bactéricides ou à des concentrations supérieures aux concentrations bactéricides ; on les trouve en petit nombre (inférieur à 0,1 % de l'inoculum) après repicage et ont la même sensibilité que la souche originale. L'explication repose sur l'hypothèse suivante : les survivants se trouvaient dans une phase métabolique inactive au moment de l'antibiogramme ; et qu'ils n'ont pu être détruits par des antibiotiques qui, comme les bêta lactamines agissent uniquement sur des cellules en phase de multiplication active.

3. 1.2 Effet paradoxal ou phénomène de EAGLE

Ce phénomène se caractérise par une baisse du taux de bactéricidie avec l'augmentation des concentrations d'antibiotiques, le phénomène est surtout observé avec les bêta lactamines : l'explication repose sur l'hypothèse suivante :

Une forte concentration d'antibiotiques serait inhibitrice pour la synthèse des protéines dans les bactéries, ce qui empêcherait la multiplication bactérienne nécessaire à l'activité de l'antibiotique.

3. 1.3 Phénomène de tolérance (7,14,37,44)

Le terme tolérance exprime des isolats bactériens inhibés mais non détruits par des concentrations d'antibiotiques bactéricides.

On détermine la tolérance d'une souche *in vitro* en comparant la CMI et la CMB obtenue avec l'antibiotique étudié.

Alors qu'une souche exposée à un agent bactéricide à une CMB et une CMI similaires, une souche tolérante a une CMB plus élevée que la CMI (5 dilutions ou plus) et le rapport CMB/CMI est supérieur ou égal à 32.

Pour l'explication du mécanisme de la tolérance : il s'agit parfois d'un phénomène de tolérance phénotypique, caractérisé par une baisse de la sensibilité aux antibiotiques dans certaines conditions de croissance. La tolérance phénotypique est instable ou réversible selon le milieu de culture, le pH, la phase de croissance de la bactérie.

Il peut s'agir d'une tolérance génétique, comme la suppression du système d'enzymes autolytiques ; la tolérance génétique apparaît à la suite d'une mutation ou de l'acquisition de plasmide ou de transposons.

3. 1.4 Résistance phénotypique

La résistance phénotypique peut se développer au cours de la détermination de la CMB, c'est une caractéristique de la bactérie, on la différencie du phénomène de persistance parce que les survivants sont plus résistants que la souche originale.

La résistance phénotypique a été observée avec les bacilles Gram négatif et les aminosides. Elle semble être le résultat d'un ralentissement dans le transport de l'antibiotique à l'intérieur de la bactérie, elle a également été remarquée chez certains bacilles Gram négatif dont *Pseudomonas aeruginosa*, en présence de bêta lactamines : Ainsi quand ces bactéries sont en présence de bêta lactamines, ils augmentent leur production périplasmique de bêtalactamases et limitent la pénétration de l'antibiotique par les porines.

3. 2. Facteurs techniques

Pour réunir les conditions optimales au cours des épreuves de bactéricidie, il faut tenir compte des variables suivantes :

- la phase de croissance de l'inoculum
- la densité de l'inoculum
- Le contact de la bactérie avec l'antibiotique
- La composition du milieu
- Le transfert d'antibiotique

3. 2.1 La Phase de Croissance de l'Inoculum

La préparation de l'inoculum doit se faire à partir de bactéries en phase exponentielle de croissance, en effet, en fin de phase de décélération ou en phase stationnaire, les bactéries sont détruites moins rapidement qu'en phase exponentielle : on observe alors une augmentation du nombre de survivants.

3.2.2 La densité de l'inoculum

C'est le facteur le plus important dans l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Dans les épreuves de bactéricidie, on a observé que la tolérance semblait augmenter avec

un inoculum très dense et baisser avec un inoculum léger. Le NCCLS recommande un inoculum final de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml pour les bactéries aérobies et un inoculum de $5 \cdot 10^6$ UFC/ml pour les bactéries anaérobies.

3.2.3 Le contact de la bactérie avec l'antibiotique

Il est parfois incomplet. En effet, les bactéries ont tendance à adhérer à la paroi des tubes, au dessus du ménisque, ce qui entraîne une augmentation du nombre de survivants. Cette adhérence se produit surtout avec les tubes de polypropylène.

On recommande donc d'effectuer la technique dans des tubes de borosilicate et de déposer l'inoculum bactérien au dessus du ménisque.

Pour remettre en suspension et en contact avec l'antibiotique, les bactéries qui adhèrent au dessus du ménisque, on conseille d'agiter manuellement les tubes ou avec un agitateur électrique type VORTEX.

3.2.4 La Composition du Milieu

Pour une appréciation correcte des résultats, il faut tenir compte de certains facteurs de variation dans la composition du milieu. Il est donc nécessaire de choisir pH, osmolarité, concentration en cations divalents, en fonction des antibiotiques et en fonction des bactéries.

3.2.5 Le Transfert d'Antibiotique

Le problème associé au transfert d'antibiotique dépend du volume prélevé pour faire la numération des survivants et de la CMI, il est particulièrement important lorsque qu'il s'agit de faire la numération des survivants et que la CMI est élevée.

IV LA RESISTANCE BACTERIENNE (9,30,35,44,45)

De nos jours, il ne fait aucun doute que les antibiotiques constituent l'un des groupes de médicaments les plus employés en Médecine.

Depuis les découvertes de la pénicilline en 1929 par Sir Alexander FLEMING, des sulfamides en 1932 par Gerhard DOMAGK et de la stréptomycine en 1944 par Selman WAKSMAN, le pronostic des maladies infectieuses d'origine bactérienne a été radicalement modifié, parallèlement on a assisté à l'émergence d'un arsenal thérapeutique riche de près d'une centaine d'antibiotiques

En dépit de la multiplicité et de la diversité des antibiotiques, une recherche permanente de nouvelles molécules antibactériennes s'avère nécessaire car des résistances aux antibiotiques sont apparues, au fur et à mesure de leur utilisation.

La résistance Bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique.

4.1 Résistance naturelle et résistance acquise

La résistance naturelle est une caractéristique commune à l'ensemble des souches d'une même espèce bactérienne, il s'agit d'un caractère chromosomique pouvant être retenu comme critère d'identification (phénotype de résistance).

Le Tableau I donne les principales résistances naturelles aux antibiotiques.

Tableau I. Principales Résistances Naturelles aux Antibiotiques

Antibiotique	Espèces bactériennes	Mécanismes
Ampicilline Amoxicilline	<i>Klebsiella spp. Levinea</i>	bêta lactamases
Céfalotine	<i>Enterobacter spp. ; Citrobacter spp.</i> <i>Serratia spp. Proteus morganii spp,</i> <i>Proteus vulgaris, Providencia spp,</i> <i>Pseudomonas spp, Bactéroïdes spp</i>	bêta lactamases
Imipénème	<i>Stenotrophomonas maltophila</i>	bêta-lactamases
Triméthopri-me	<i>Pseudomonas spp. ; Bactéroïdes spp.</i> <i>Neisseria spp. Campylobacter spp</i>	Cible de faible affinité
Aminosides	<i>Streptocoques, entérocoques</i>	- Perméabilité
Gentamicine	<i>Providencia spp</i>	Enzyme Inactivatrice (acétyl-transférase)
Colistine	Toutes les bactéries à Gram positif <i>Proteus spp. Serratia spp</i>	
Glycopeptides(vanco mycine, teicoplanine)	Toutes les bactéries à Gram(-) <i>Pediococcus, Leuconostoc, lactobacilles.</i> <i>Enterococcus gallinarum, Enterococcus</i> <i>casseliflavus, et Enterococcus flavescens,</i> <i>Nocardia, Erysipelothrix</i>	Perméabilité - Cible différent de celle des autres Gram +

La résistance acquise, à l'opposé ne s'applique qu'à certains souches au sein de la même espèce bactérienne.

4.2- Mécanisme de Résistance

3 principaux mécanismes sont responsables de la résistance aux antibiotiques

4.2.1 Modification de la cible des antibiotiques

Pour être actif, l'antibiotique doit se fixer d'abord sur une cible. Dans le cas des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) situées dans la membrane cytoplasmiques bactériennes, il peut s'agir soit d'une substitution de ces PLP et ou soit d'une diminution de l'affinité de ces PLP.

4.2.2 Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques

Ex : Les bêta lactamases pour les bêtalactamines.

C'est le cycle bêtalactame qui est hydrolysé et inactivé par les bêtalactamases, entraînant ainsi la perte de l'activité antibactérienne.

4.2.3 Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne

La synthèse d'une porine ou du lipopolysaccharide peut être affectée, ce qui réduit la perméabilité externe : l'antibiotique ne peut plus atteindre sa cible.

Il peut aussi s'agir d'un efflux actif de l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie

4.3 Génétique de la résistance

Il existe 2 supports essentiels : chromosomique et extrachromosomique.

4.3.1 Support chromosomique

4.3.1.1 Mutation ponctuelle

- Soit dans un gène de régulation entraînant par exemple une hyperproduction d'enzymes inactivant les antibiotiques
- Soit dans le gène de structure modifiant le spectre d'une enzyme.

4.3.1.2 Remaniement du génome

Ex : insertion de séquence apportant un promoteur permettant d'exprimer des gènes silencieux ou encore de l'acquisition du fragment de chromosome étranger par transformation

4.3.1.2 Support extrachromosomique

L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation.

L'ensemble de ces gènes peuvent être sur des fragments d'acide desoxyribonucléique (ADN) appelés transposons qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans le chromosome en allant de l'un à l'autre.

MATERIEL ET METHODES

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Bactériologie – Virologie de l’Hôpital Aristide Le Dantec de Dakar.

I. SOUCHES BACTERIENNES ET ANTIBIOTIQUES

1.1 – Souches bactériennes

1.1.1 Souches à tester

Notre étude a porté sur 90 souches bactériennes isolées et identifiées selon les méthodes classiques d'isolement et d'identification au laboratoire de bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec, à l'Institut Pasteur (IP), au Laboratoire de bactériologie de l'hôpital FANN.

Ces souches sont réparties en nombre de manière suivante :

- Bactériologie-Virologie HALD 76 souches
- Bactériologie FANN 9 souches
- Institut Pasteur de Dakar 5 souches

Les espèces bactériennes sur lesquelles nous avons travaillé sont (Tableau 3)

- *Escherichia Coli*
- *Klebsiella Pneumoniae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*
- *Enterobacter cloacae*
- *Salmonella Spp.*
- *Enterococcus feacalis*
- *Staphylococcus aureus* (*Méthi-R*, *Méthi-S*)
- *Streptococcus pyogenes*.

Les souches proviennent de produits pathologiques divers (Tableau III)

- LCR (liquide Céphalo Rachidien)
- Sang (Hemoculture)
- Pus
- Selles

Ces souches ont été isolées entre 1996 - 1998.

Toutes les souches testées ont été conservées à 70°C dans des cryotubes (Nunc^R) contenant du bouillon coeur-cerveille (Bcc) additionné de 15% de glycérol en trois exemplaires sur trois portoirs différents.

I. 1-2 Souches de référence

L'utilisation de souches de référence permet de vérifier la conformité des résultats du test. Les souches de références utilisées sont les suivantes :

- *Escherichia Coli* ATCC 25.922

Ciprofloxacine (Valeurs critiques : 0,004 - 0,015 mg/l)

Aztreonam (Valeurs critiques : 0,06 - 0,25 mg/l)

- *Staphylococcus aureus* ATCC 29.213

Ciprofloxacine (Valeurs critiques : 0,125 - 0,5 mg/l)

Aztreonam (Valeurs critiques : 4 – 32 mg/l)

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27.853

Ciprofloxacine (Valeurs critiques : 0,25 - 1) mg/l)

Aztreonam (Valeurs critiques : 2 – 8 mg/l)

1. 2. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés appartiennent aux familles suivantes

- Bêta-lactamines

- * Pénicilline G
- * Cefazoline
- * Ceftriaxone
- * Cefepime
- * Aztreonam

- Quinolones

- * Ciprofloxacine
- * fléroxacine

II. MATERIEL ET REACTIFS

2.1 Réidentification des souches bactériennes

Nous avons utilisé le schéma habituel pour l'identification des souches bactériennes, les souches ont été réisolées sur des géloses ordinaires ou enrichies, puis nous avons identifié par des galeries classiques complétées par des mini galeries d'identification et au besoin par des méthodes d'identification sur microplaque mises au point au niveau du laboratoire de Bactériologie - Virologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec.

2. 2 Détermination des CMI/CMB

2.2-1 Matériel

- Plaques de Microtitration
- Pipette, micropipettes, aide pipetteur
- Embouts stériles
- Tubes à essai stériles
- Tubes à hémolyse stériles
- Tubes Nunc^R
- Four à micro ondes
- Etuve
- Flacons
- Boîtes de Pétri stériles
- Autoclaves
- Mac Farland 0,5.

2.2-2 Réactifs

Les milieux utilisés sont les suivants.

- Mueller - Hinton (Gélose et Bouillon)
- GSO (Gélose au Sang ordinaire)
- GSC simple (gélose au Sang cuit)
- GSC Polyvitex
- Bouillon TODD - HEWITT
- Eau physiologique

2.3 Préparation des solutions mères d'antibiotiques

2.3-1 Matériel

- Pipettes et Micropipettes
- Embouts stériles
- Tubes à hémolyse et à essai
- Cryotubes (Nunc^R)
- Filtres
- Balance de précision

2.3-2 Réactifs

- Tampon phosphate PH₆
- Soude Normal
- Méthanol
- Eau distillée stérile
- Bicarbonate de sodium à 5% dans l'eau.

2.4 Matériel pour la conservation

- Cryotubes Nunc^R
- BCC additionné à 15% de glycérol.

2.5 Matériel pour l'analyse des résultats

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel StatView, avec des programmes informatiques qui facilitent la gestion des résultats.

III. METHODES

Nous avons utilisé le méthode de microdilution en milieu liquide. C'est une méthode de référence consistant à distribuer dans une série de microcupules contenant un volume déterminé de bouillon de Müller - Hinton, des concentrations décroissantes d'antibiotiques et à ensemercer chaque tube avec une suspension standardisée de la bactérie à étudier ; après incubation (de 18 à 24 h), la plus faible dilution d'antibiotique dans laquelle la croissance bactérienne est complètement inhibée représente la CMI. Pour la détermination de la CMB, des repicages sur milieu gélosé sont effectués en fonction du temps (après 1h, 2h, 4h, 6h puis 24h de contact).

La CMB est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique capable de réduire 99,9% de l'inoculum bactérien c'est à dire laisser 0,1% de suivants.

3.1 Préparation des solutions mères d'antibiotiques

Pour les épreuves de dilution, nous avons préparé puis congelé les antibiotiques sous forme de solutions mères concentrées à 10.240 mg/ml.

L'activité spécifique de l'antibiotiques est souvent différente de la masse de poudre, ainsi par exemple : 1mg de produit déshydraté peut ne contenir que 0,914mg de substance biologiquement active. C'est ainsi que nous avons utilisé les formules suivantes pour déterminer la masse de poudre et le volume de diluant pour préparer la solution mère.

$$\text{Masse (mg)} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{concentration désirée } \mu\text{g}}{\text{activité spécifique}}$$

$$\text{Volume du diluant} = \frac{\text{Masse (mg)} \times \text{Activité spécifique } \mu\text{g/g}}{\text{Concentration désirée (mg/l)}}$$

Les solvants et diluants nécessaires pour la confection de chaque solution mère d'antibiotique figurent dans le (Tableau IV)

3.2 Préparation de l'inoculum

Pour cela grâce à une anse de platine, nous avons touché 4 à 5 colonies bien isolées de la bactérie à étudier, puis nous avonsensemencé les bactéries ainsi prélevées dans 4 à 5 ml de bouillon choisi en fonction de l'exigence du germe.

Puis nous avons incubé l'inoculum à 35°C pendant 4 à 5 heures puis on a ajusté avec de l'eau physiologique pour obtenir une turbidité comparable à celle de l'étalon 0,5 de l'échelle Mc Farland.

Pour préparer l'inoculum de certaines bactéries à croissance faible et difficile en bouillon ; 4 à 5 colonies ont été directement émulsifiées dans une petite quantité d'eau physiologique puis ajusté à l'étalon 0,5 de Mc Farland.

(Cas de *staphylococcus aureus* Méthi-R, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*).

A partir de l'inoculum ajusté 10^8 UFC/ml, nous avons fait une dilution au 1/100è, ce qui produit une suspension de 10^6 UFC/ml. Ainsi 100 µl de cet inoculum ont été mélangé avec 100 µl de bouillon contenant l'antibiotique, ce qui donne une concentration finale de 5.10^5 UFC / ml dans la microcupule.

3.3 Ensemencement des microplaques

La distribution de l'inoculum dans les microcupules a été faite 15 minutes après sa préparation.

3.4 Lecture des CMI et détermination des CMB

Pour lire les plaques, on observe le fond des cupules dans un miroir. la CMI est représentée par la plus faible concentration qui ne montre aucune croissance visible.

Pour mesurer la CMB, on détermine d'abord la CMI, ensuite on procède à la numération de l'inoculum à partir de la cupule témoin, on a prélevé pour cela 10 µl qu'on a déposé sur gélose sans l'étaler, après incubation les spots qui n'ont pas donné de pousse ont été recherché, pour déterminer la CMB.

Cette détermination se fait en fonction du temps 1h, 2h, 4h, 6h puis 24h d'incubation, la plus faible dilution dont le spot ne montre pas de pousse représente la CMB.

Si la CMB d'un antibiotique sur une souche bactérienne est proche de la CMI, $CMB/CMI = 1$ ou 2 : l'antibiotique est dit bactéricide.

Par contre, si la CMB est relativement éloignée de la CMI ($CMB/CMI = 4$ à 16) l'antibiotique est dit bactériostatique.

IV. CONTROLE DE QUALITE

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

- Les souches de référence

Leur utilisation permet de juger de la reproductibilité des tests. Un certain nombre de règles doivent être respectées.

* Utiliser les souches de référence sûres types ATCC

* Entretenir correctement les souches de contrôle de qualité (conservation selon 2 méthodes à -70°C dans des 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 ou en solution 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.

TABLEAU II. Effectif des souches Bactériennes

ESPECES BACTERIENNES	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Escherichia coli</i>	9	10 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	11,110 %
<i>Proteus mirabilis et P. vulgaris.</i>	10	11,110 %
<i>Enterobacter</i>	10	11,110 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	8,88 %
<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>Méthi-R, Méthi-S</i>)	18	20 %
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5	5,55 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	11,110 %
<i>Salmonella Spp.</i>	10	11,110 %
TOTAL	90	100 %

TABLEAU III. REPARTITION DES SOUCHES EN FONCTION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES

	SANG	PUS	URINES	SELLES	AUTRES
<i>Escherichia Coli</i>	1	8	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	2	2	-	
<i>Proteus mirabilis</i> et <i>P. vulgaris.</i>	-	10	-	-	-
<i>Enterobacter cloacé</i>	3	6	1	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	6	-	-	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	17	-	-	-
<i>Streptococcus Pyogenes</i>	1	4			
<i>Enterococcus</i>	1	3	-	1	5
<i>Salmonella Spp.</i>	-	-	-	10	-
TOTAL	14	56	3	11	6
Pourcentage	15,55%	62,22%	3,33%	12,22%	6,66%

TABLEAU IV. SOLVANTS ET DILUANTS DES ANTIBIOTIQUES

ANTIBIOTIQUES	SOLVANTS	DILUANTS
Céfépime	Tampon Phosphate PH ₆	Tampon Phosphate PH ₆
Ceftriaxone	Eau distillée	Eau distillée
Céfazoline	"	"
Aztréonam	Solution saturée de bicarbonate de sodium	Eau distillée
Ciprofloxacine	Eau distillée	Eau distillée
Fleroxacine	Méthanol + Soude	Eau distillée
Pénicilline G	Eau distillée	Eau distillée

RESULTATS ET COMMENTAIRES

← *Staphylococcus aureus* Methi R (Tableau V, VI, VII et figure 1)

Sur la totalité des souches, la ciprofloxacine a présenté une excellente activité bactéricide à une concentration égale à la CMI (1 mg/l), après un temps de contact de 4h. Les autres antibiotiques ont été plus tolérantes que bactéricides.

Tableau V: Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Staphylococcus aureus* MéthiR par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Penicilline G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	10	10	10
Aztreonam	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	10	10
Ciprofloxacine	0	0	0	6	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	0	0	0	0	0	4	8	10	10	10	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7	10	10	10
Cefazoline	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	10	10	10
Céfépime	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	10

Tableau VI : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Staphylococcus aureus* MéthiR

	1	2	4	8
Penicilline G	4	3	1	
Aztreonam	6	2	1	1
Cefazoline	3	6	1	
Ceftriaxone	5	3	2	
Céfépime	4	6		
Ciprofloxacine	2	3	5	
Fleroxacine	1	2	3	4

↑ *Staphylococcus aureus* Methi S (Tableau VIII, IX, X et Figure 2)

Toutes les souches ont été détruites à la concentration de 1mg/l supérieure ou égale à 2 x la CMI à la CMI après 4h de contact par la ciprofloxacine.

Les autres antibiotiques ont eu des activités bactéricides médiocres sur les souches avec prédominance du phénomène de tolérance.

Tableau VIII : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Staphylococcus aureus* MéthiS

	1	2	4	8
Penicilline G	2	4	1	
Aztreonam	4	4		
Cefazoline	2	6		
Ceftriaxone	3	3		
Céfépime	1	4	3	
Ciprofloxacine		1	6	1
Fleroxacine	4	2	1	1

Tableau IX : Effectifs d'inhibition des souches de *Staphylococcus aureus* MéthiS par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Penicilline G	0	0	0	0	1	0	0	0	0	5	7	8	8	8	8
Aztreonam	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6	7	8	8
Ciprofloxacine	0	0	5	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Fleroxacine	0	0	0	0	0	1	3	5	7	8	8	8	8	8	8
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	7	8	8	8
Cefazoline	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	7	8	8	8
Céfépime	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6	8	8	8	8

Tableau X : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Staphylococcus aureus* MéthiS (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
PenicillineG	1	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6	7	8			
	2	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6	7	8			
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	6	6	8		
	6	0	0	0	0	0	0	1	1	3	7	7	7	8		
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	7	8		
Aztreonam	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	7	8
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	6	7	8
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	7	7	8
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	7	8	
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	6	8	
Ciprofloxacine	1	0	0	0	1	3	6	6	8							
	2	0	0	1	3	4	6	6	8							
	4	0	0	2	5	5	8									
	6	0	0	0	6	6	8									
	24	0	0	0	0	4	8									
Fleroxacine	1	0	0	0	0	0	1	1	4	4	6	8				
	2	0	0	0	0	0	1	2	4	5	6	8				
	4	0	0	0	0	0	0	3	4	6	8					
	6	0	0	0	0	1	1	4	6	7	8					
	24	0	0	0	0	0	0	0	3	6	8					
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	7	8	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	5	7	8	
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	6	6	6	8
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	8		8
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	7	8	
Cefazoline	1	0	0	0	0	0	0	1	1	4	6	7	7	8		
	2	0	0	0	0	0	0	1	1	3	5	7	7	8		
	4	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6	6	8			
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8					
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6	7	8		
Céfépime	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6	8		
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6	8		
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	8			
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	7	8		
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5	7	8	

→ *Enterococcus faecalis* (Tableau XI, XII, XIII et figure 3)

Sur la majorité des souches, la ciprofloxacine a présenté une bonne activité bactéricide à une concentration inférieure à 2 x la CMI (0,5 mg/l) après 4h de contact.

Les autres antibiotiques ont révélé des niveaux de résistances élevés chez *E. faecalis* avec des CMB toxiques in vivo quel que soit le temps, cependant les activités bactéricides intrinsèques ont été bonnes avec des rapports CMB/CMI = 1 ou 2 pour la quasi totalité des souches.

Tableau XI : Effectifs cumulés d'inhibition des souches d'*Enterococcus faecalis* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Penicilline G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	8	9	10
Aztreonam	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Ciprofloxacine	0	0	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Cefazoline	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	10
Céfépime	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10

Tableau XII : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches d'*Enterococcus faecalis*

	1	2	4	8
Penicilline G	1	2	5	2
Aztreonam	10			
Cefazoline	1		9	
Ceftriaxone	10			
Céfépime	10			
Ciprofloxacine	2	2	6	
Fleroxacine	6	3		

✓ *Streptococcus pyogenes* (Tableaux XIV, XV, XVI et Figure 4)

La majorité des souches ont été détruites par la ciprofloxacine à une concentration basse (0,25 mg/l) supérieure ou égale à 2 x la CMI après un temps de contact de 4h.

Les céphalosporines (ceftriaxone, céfépime, céfazoline) se sont montrées assez efficaces : avec une bactéricidie totale sur les souches après 4h de contact à une concentration (8 mg/l) supérieure ou égale à 2 x la CMI.

La pénicilline G pour sa part est efficace sur la majorité des souches à 8 mg/l après 4h.

Tableau XIV: Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Streptococcus pyogenes* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Penicilline G	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5	5	5	5	5
Aztreonam	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	5	5	5	5	5
Ciprofloxacine	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Fleroxacine	0	0	0	0	1	1	3	4	5	5	5	5	5	5	5
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5	5	5	5	5	5
Cefazoline	0	0	0	0	0	0	1	1	4	4	5	5	5	5	5
Céfépime	0	0	0	0	0	0	2	5	5	5	5	5	5	5	5

Tableau XV : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Streptococcus pyogenes*

	1	2	4	8
Penicilline G	3	2		
Aztreonam	2	3		
Cefazoline	5			
Ceftriaxone	4	1		
Céfépime	4			
Ciprofloxacine	4	1		
Fleroxacine	4	1		

Tableau XVI : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Streptococcus pyogenes* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
PenicillineG	1	0	0	0	1	1	1	1	1	3	3	5				
	2	0	0	0	1	1	1	1	1	3	3	5				
	4	0	0	0	0	0	0	1	1	4	4	4	5			
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	5			
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5				
Aztreonam	1	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3	4	5			
	2	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3	4	5			
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	5						
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5					
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	5			
Ciprofloxacine	1	0	0	1	1	1	5									
	2	0	0	1	1	1	5									
	4	1	1	1	4	4	5									
	6	0	3	3	5											
	24	0	0	3	5											
Fleroxacine	1	0	0	0	1	2	2	3	4	5						
	2	0	0	0	1	2	2	3	4	5						
	4	0	0	0	1	3	3	5								
	6	0	0	0	1	4	4	5								
	24	0	0	0	0	0	1	3	4	5						
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	1	1	1	2	3	4	5				
	2	0	0	0	0	1	1	1	2	3	4	5				
	4	0	0	0	1	1	1	2	2	5						
	6	0	0	0	0	0	0	1	2	5						
	24	0	0	0	0	0	0	0	1	4	4	5				
Cefazoline	1	0	0	0	0	1	2	3	4	5						
	2	0	0	0	0	1	2	3	4	5						
	4	0	0	0	0	0	1	2	3	5						
	6	0	0	0	0	0	0	1	1	5						
	24	0	0	0	0	0	0	1	1	4	4	5				
Céfépime	1	0	0	0	0	1	1	1	2	4	4	5				
	2	0	0	0	0	1	1	1	2	4	4	5				
	4	0	0	0	0	1	1	3	3	5						
	6	0	0	0	0	0	1	3	3	5						
	24	0	0	0	0	0	0	2	4	4	5					

° *Escherichia coli* (Tableau XVII, XVIII, XIX et figure 5)

Presque toutes les souches ont été détruites par la ciprofloxacine à des concentrations supérieures ou égales à 2 x la CMI après 4h.

Les céphalosporines ont été actives mais à des concentrations plus élevées, avec une destruction de la majorité des souches à une concentration = à la CMI (8mg/l) après 4h de contact ;

l'aztréonam a accusé beaucoup plus de tolérances que de bactéricidies.

Tableau XVII : Effectifs cumulés d'inhibition des souches d'*Escherichia coli* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	1	1	1	2	3	3	6	7	7	7	7	9
Ciprofloxacine	2	5	8	8	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Fleroxacine	0	0	0	0	0	1	4	7	8	9	9	9	9	9	9
Ceftriaxone	0	0	0	2	3	4	6	6	1	8	8	9	9	9	9
Céfépime	0	0	0	2	3	4	6	6	6	7	8	9	9	9	9

Tableau XVIII : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches d'*Escherichia coli*

	1	2	4	8
Aztreonam	6	2	1	
Ceftriaxone	5	4		
Céfépime	5	4		
Ciprofloxacine	4	4		1
Fleroxacine	6	3		

Tableau XIX : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches *d'Escherichia coli* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Aztreonam	1	0	0	0	0	1	2	3	4	4	4	6	7	7	7	9
	2	0	0	0	0	1	2	3	4	4	4	6	7	7	7	9
	4	0	0	0	1	1	1	2	3	3	5	5	7	7	7	9
	6	0	0	0	0	1	1	2	2	2	5	5	7	7	7	9
	24	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	6	6	7	7	9
Ciprofloxacine	1	3	5	8	9											
	2	3	5	9												
	4	5	7	8	8	8	9									
	6	4	6	7	7	8	9									
	24	3	4	7	8	8	9									
Fleroxacine	1	0	0	1	1	1	1	1	2	4	9					
	2	0	0	0	0	0	0	0	1	2	9					
	4	0	0	0	1	1	1	2	3	7	8	9				
	6	0	0	1	1	1	2	2	3	8	8	9				
	24	0	0	0	0	0	0	3	5	6	8	9				
Ceftriaxone	1	0	0	0	1	3	5	6	7	8	8	8	8	9		
	2	0	0	0	1	3	4	6	7	8	8	8	8	9		
	4	0	0	0	1	1	2	6	6	7	8	8	8	8	9	
	6	0	0	0	0	0	1	3	5	7	8	8	8	8	9	
	24	0	0	0	1	2	3	6	7	8	8	9				
Céfépime	1	0	0	0	0	1	4	6	6	6	7	8	8	9		
	2	0	0	0	0	1	4	6	6	6	7	8	8	9		
	4	0	0	0	1	1	2	6	7	7	7	8	8	8	9	
	6	0	0	0	0	1	2	5	6	7	8	8	8	8	9	
	24	0	0	0	2	2	3	6	6	6	8	8	8	9		

± *Klebsiella pneumoniae* (Tableau XX, XXI, XXII et figure 6)

La quasi totalité des souches ont été détruites par la ciprofloxacine à des concentrations supérieures ou égales à 2 x la CMI après 4h de contact.

6 souches sur 10 ont été détruites par la ceftriaxone à une concentration atoxique in vivo (8mg/l) et égale à la CMI après 4h.

Avec l'aztréonam et la céfépime : c'est le phénomène de tolérance qui domine.

Tableau XX : Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Klebsiella pneumoniae* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	1	2	2	6	6	7	8	8	8	8	8	10
Ciprofloxacine	3	5	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	0	0	0	0	0	0	9	10	10	10	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	0	0	1	2	4	4	6	7	8	9	9	10	10
Céfépime	0	0	0	0	0	2	3	4	4	6	7	7	9	10	10

Tableau XXI : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Klebsiella pneumoniae*

	1	2	4	8
Aztreonam	8	2		
Ceftriaxone	6	4		
Céfépime	9	1		
Ciprofloxacine	9	1		
Fleroxacine	10			

Tableau XXII : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Klebsiella pneumoniae* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Aztreonam	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	4	5	6	8	8	10
	2	0	0	0	1	2	2	2	2	5	5	5	8	8	8	10
	4	0	0	0	1	2	4	4	5	5	7	8	8	8	8	10
	6	0	0	1	1	4	5	5	6	7	8	8	8	8	8	10
	24	0	0	0	1	2	2	5	6	6	8	8	8	8	8	10
Ciprofloxacine	1	1	2	7	7	7	9	9	10							
	2	0	4	7	9	9	9	10								
	4	1	6	8	8	9	10									
	6	0	6	8	10											
	24	2	5	7	10											
Fleroxacine	1	0	0	0	0	0	1	9	9	10						
	2	0	0	0	0	0	1	9	9	10						
	4	0	0	0	0	0	8	9	10							
	6	0	0	0	0	0	8	9	10							
	24	0	0	0	0	0	0	9	10							
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	0	0	2	2	3	7	7	8	9	10	
	2	0	0	0	0	0	0	2	3	5	7	7	8	9	10	
	4	0	0	0	0	0	1	3	4	6	7	8	8	9	10	
	6	0	0	0	0	0	1	3	3	4	6	8	8	10		
	24	0	0	0	0	0	1	2	4	4	4	7	8	9	9	10
Céfépime	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	6	9	10	
	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6	7	10		
	4	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5	7	8			
	6	0	0	0	0	0	1	2	3	4	6	7	8	10		
	24	0	0	0	0	0	0	1	3	3	4	6	7	9	10	

" *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau XXIII, XXIV, XXV et figure 7)

La ciprofloxacine présente une activité bactéricide efficace sur 3 souches avec des CMB et CMI proches après un temps de contact court (2h). Les autres antibiotiques ont été plus tolérantes que Bactéricides.

Tableau XXIII : Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	0	1	1	2	2	3	5	6	7	8	8	8
Ciprofloxacine	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	8	8	8	8
Fleroxacine	0	0	0	0	0	1	1	1	4	5	8	8	8	8	8
Ceftriaxone	0	0	0	1	1	2	2	2	4	5	6	8	8	8	8
Céfépime	0	0	0	0	0	1	2	2	6	7	8	8	8	8	8

Tableau XXIV: CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*

	1	2	4	8	16
Aztreonam	2	3			1
Ceftriaxone	1	7			
Céfépime	1	4	1	1	
Ciprofloxacine	4	3			
Fleroxacine	7	1			

Tableau XXV : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Aztreonam	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	8
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	8
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	4	5	8
	6	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	3	4	5	8
	24	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	3	3	4	5	8
Ciprofloxacine	1	0	0	0	0	0	1	3	4	5	5	8				
	2	0	0	0	0	0	3	3	3	5	5	8				
	4	0	0	0	0	0	3	3	3	4	4	7	8			
	6	0	1	2	2	3	3	3	4	4	5	8				
	24	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4	7	8			
Fleroxacine	1	0	0	0	0	0	1	1	2	2	4	8				
	2	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	8				
	4	0	0	0	0	0	1	1	1	2	5	8				
	6	0	0	0	0	0	1	1	1	3	4	7	8			
	24	0	0	0	0	0	1	1	1	3	5	8				
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	4	8
	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	3	5	5	8
	4	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	4	5	6	8
	6	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4	5	6	6	7	8
	24	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4	5	5	6	8	
Céfépime	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	8
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	6	8
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7	7	8
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	7	7	8
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	6	7	7	7	8

≥ *Proteus mirabilis* et *P. vulgaris* (Tableaux XXVI, XXVII, XXVIII et figure8)

Tous les antibiotiques ont été efficaces sur la totalité des souches avec des CMB et CMI très rapprochées et basses, après seulement 1h de contact.

Tableau XXVI: Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Proteus mirabilis* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	3	7	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ciprofloxacine	6	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	1	4	4	5	7	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	1	7	8	8	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Céfépime	0	0	0	3	5	8	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tableau XXVII : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Proteus mirabilis*

	1	2	4	8
Aztreonam	7	3		
Ceftriaxone	7	3		
Céfépime	2	8		
Ciprofloxacine	9	1		
Fleroxacine	4	6		

Tableau XXVIII : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Proteus mirabilis* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Aztreonam	1	0	0	0	2	7	8	10								
	2	0	0	0	2	9	10									
	4	0	0	0	7	9	10									
	6	0	0	1	9	10										
	24	0	0	0	3	5	9	9	10							
Ciprofloxacine	1	1	2	7	10											
	2	1	1	7	10											
	4	1	1	9	10											
	6	4	5	9	10											
	24	5	8	8	8	9	9	9	10							
Fleroxacine	1	0	0	0	2	3	3	3	9	9	10					
	2	0	0	0	2	3	3	5	9	9	10					
	4	0	0	2	3	4	5	9	9	9	10					
	6	3	3	4	5	6	7	9	10							
	24		3	4	5	5	6	8	9	10						
Ceftriaxone	1	0	0	0	2	7	9	9	9	9	10					
	2	0	0	0	6	8	9	9	9	9	10					
	4	0	0	0	7	8	9	9	9	9	10					
	6	0	0	1	9	9	9	9	9	10						
	24	0	0	0	6	8	8	8	10							
Céfépime	1	0	0	0	1	5	10									
	2	0	0	0	1	4	10									
	4	0	0	0	2	4	9	10								
	6	0	0	0	4	6	10									
	24	0	0	0	1	4	7	8	10							

× *Enterobacter cloacae* (Tableaux XXX, XXXI, XXXII et figure 9)

Sur la quasi totalité des souches, la ciprofloxacine a présenté une activité bactéricide à des concentrations supérieures ou égales à 2 x la CMI après seulement 2h de contact.

Les autres antibiotiques ont été plus tolérantes que bactéricides.

Tableau XXX : Effectifs cumulés d'inhibition des souches d'*Enterobacter cloacae* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	10
Ciprofloxacine	1	2	6	8	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	0	0	0	1	3	5	6	6	6	8	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0	1	2	6	10	10	10	10	10	10
Céfépime	0	0	0	0	0	1	2	2	3	9	10	10	10	10	10

Tableau XXXI : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches d'*Enterobacter cloacae*

	1	2	4	8
Aztreonam	10			
Ceftriaxone	1	9		
Céfépime	4	6		
Ciprofloxacine	4	5		1
Fleroxacine	4	6		

Tableau XXXII : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches *d'Enterobacter cloacae* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Aztreonam	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	9	10
	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	10
	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
	6	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	10
	24	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Ciprofloxacine	1	0	4	6	8	8	8	10								
	2	0	3	5	6	8	8	10								
	4	0	1	7	7	7	9	10								
	6	4	4	7	7	7	10									
	24	0	1	6	7	7	9	10								
Fleroxacine	1	0	0	0	1	1	1	5	6	6	8	9	10			
	2	0	0	0	0	0	2	6	6	6	8	10				
	4	0	0	1	1	2	3	6	6	6	8	8	10			
	6	0	0	0	2	5	6	6	6	6	9	9	10			
	24	0	0	0	0	1	4	6	6	6	7	9	10			
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	0	1	2	2	4	6	9	9	9	9	10
	2	0	0	0	0	0	2	2	3	4	6	7	8	10		
	4	0	0	0	0	0	0	2	3	4	7	9	10			
	6	0	0	0	0	1	2	4	4	8	8	8	10			
	24	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	6	10			
Céfépime	1	0	0	0	0	0	1	2	3	5	7	9	9	9	9	10
	2	0	0	0	0	1	1	2	3	5	5	8	9	10		
	4	0	0	0	0	0	1	3	4	6	9	10				
	6	0	0	0	0	0	2	3	6	6	9	10				
	24	0	0	0	0	0	1	2	2	2	5	9	10			

∞ Salmonella spp (Tableaux XXXIII, XXXIV, XXXV et figure 10)

La ciprofloxacine a été très efficace avec des CMB et CMI similaires et très basses (0,25mg/l) et avec un temps de lyse très court sur toutes les souches. Les autres antibiotiques ont été plus tolérantes que bactéricides avec des CMB éloignées des CMI.

Tableau XXXIII : Effectifs cumulés d'inhibition des souches de *Salmonella spp* par différentes concentrations d'antibiotiques (en mg/l)

CMI(mg/l)	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Antibiotiques															
Aztreonam	0	0	0	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	10
Ciprofloxacine	4	6	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fleroxacine	4	4	4	4	4	4	4	7	10	10	10	10	10	10	10
Ceftriaxone	0	0	0	4	4	4	5	5	5	5	5	7	10	10	10
Céfépime	0	0	0	4	4	5	5	5	5	5	5	5	10	10	10

Tableau XXXIV : CMB/CMI des antibiotiques testés sur les souches de *Salmonella spp*

	1	2	4	8
Aztreonam	9	1		
Ceftriaxone	5	5		
Céfépime	5	4	1	
Ciprofloxacine	9	1		
Fleroxacine	7	3		

Tableau XXXV : CMB 99% et Cinétique de Bactéricidie des différents antibiotiques testés sur les souches de *Salmonella spp* (Effectifs cumulés de bactéricidie)

CMB(mg/l)	Temps heures	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Aztreonam	1	0	0	0	1	1	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	10
	2	0	0	0	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	10
	4	0	0	0	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	10
	6	0	0	0	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	10
	24	0	0	0	3	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	10
Ciprofloxacine	1	3	3	3	9	10											
	2	4	4	4	9	10											
	4	4	6	6	10												
	6	4	6	6	10												
	24	4	6	7	10												
Fleroxacine	1	0	4	4	4	4	4	4	6	7	9	10					
	2	0	4	4	4	4	4	4	6	7	9	10					
	4	0	4	4	4	4	4	4	5	10							
	6	0	4	4	4	4	4	4	5	10							
	24	0	4	4	4	4	4	4	5	9	10						
Ceftriaxone	1	0	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	7	7	9	10	
	2	0	0	0	4	4	5	5	5	5	5	5	7	7	9	10	
	4	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	7	9	10		
	6	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	7	9	10		
	24	0	0	0	1	4	4	4	5	5	5	5	5	9	10		
Céfépime	1	0	0	0	0	4	4	5	5	5	5	5	7	7	9	10	
	2	0	0	0	4	4	5	5	5	5	5	5	7	7	9	10	
	4	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	10	
	6	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	10	
	24	0	0	0	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	9	10	

DISCUSSION

I - ACTIVITE BACTERICIDE IN VITRO DES ANTIBIOTIQUES

TESTES

1.1 Activité bactéricide in vitro des Bêtalactamines

I - 1 - 1 Les cocci Gram positif

L'activité des Bêta lactamines a été laborieuse sur les souches de staphylocoques (Methi R et Methi S), mais aussi sur les souches d'entérocoques.

Dans notre étude toutes les souches d'entérocoques ont été détruites à des concentrations supérieures ou égales à 32 mg/l par les Bêta lactamines.

En ce qui concerne la ceftriaxone un résultat presque analogue au nôtre a été obtenu dans une étude réalisée au laboratoire de bactériologie de l'HALD par Kassé (26), en effet 88% des souches ont été résistantes.

Dans la littérature, également beaucoup d'auteurs se sont plaints de cette résistance, ainsi DEFORGES (15) fait état d'une inefficacité de 8 céphalosporines de 3^e génération avec des CMI supérieures ou égales à 32 mg/l la résistance systématique des entérocoques à toutes les céphalosporines a déjà été constaté (10).

L'idée d'une résistance naturelle des entérocoques pour les céphalosporines a été émise (35).

On peut expliquer la résistance des entérocoques par :

- L'existence d'une plasmide transférable qui code la Bêta lactamase de résistance (38, 58).
- Elle peut être due à une modification de la protéine de liaison à la pénicilline 5 et 5' (PLP 5 et 5') (27).
- Elle peut aussi être d'origine chromosomique

Comparées aux souches de *E. faecalis*, celles de SARM ont montré le même niveau de résistance pour les bêta lactamines, avec une destruction des souches par toutes les bêta lactamines du test, à des concentrations supérieures ou égales à 32 mg/l.

En ce qui concerne la ceftriaxone, des résultats similaires ont été obtenus avec d'autres travaux (8,29)

Ndoye I. (35) avait aussi trouvé 60% de résistance à la ceftriaxone chez les SARM lors de son étude au laboratoire de bactériologie à l'HALD, dans ce même Laboratoire, SEYE K. (45) avait révélé que 40% de souches sensibles à des CMI < 4 mg/l.

De tels résultats étaient prévisibles pour les Bêta lactamines. En effet la méthicillino-résistance est croisée avec toutes les autres Bêta lactamines, en outre la majorité des cas les S.A.R..M sont producteurs de penicillinases (21), et sieglide (47) a émis l'hypothèse d'une résistance d'origine plasmidique.

Sur les S.A.M.S., les Bêta lactamines ont été passablement efficaces dans le temps avec des résultats décevants pour la ceftriaxone, avec lequel on s'attendait à des valeurs de CMI comprises entre 2 et 8 mg/l comme l'avait précisé SOUSSY (49)

S'agissant de *Streptococcus pyogenes*, l'efficacité de la pénicilline G sur ses souches, relatée dans la littérature (17, 18, 53) a été obtenue dans notre étude, avec des CMB et CMI plus élevées (8 mg/l) mais proches, sur la majorité des souches mais seulement après un temps de contact de 4h .

Cependant des résistances existent, mais faibles, en effet Bâ S. (5) a trouvé 7,7% de résistance en 1995 lors de son étude à l'HALD en 1995.

1.1.2 Les Bacilles Gram négatif.

Les Bêta lactamines se sont révélées assez efficaces sur la Bacilles Gram négatif in vitro, cependant les germes de l'hospitalisme infectieux (K.E.S) et *Pseudomonas aeruginosa* ont été en marge de cette efficacité.

La ceftriaxone pour sa part a eu une bonne activité bactéricide dans notre étude, avec une excellente répartition des rapports CMB/CMI compris entre 1 et 2 dans la majorité des cas. Plusieurs études font état de son spectre d'activité (12, 15, 16, 24, 30, 35, 44, 45)

Par opposition aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, la ceftriaxone (céphaslosporine de 3^{ième} génération) est plus active sur les bacilles Gram négatif et résistent mieux aux céphalosporinases. Dans notre étude, son activité varie en fonction des entérobactéries ce qui est conforme à la littérature (32, 34, 45).

Les résistances observées chez *Pseudomonas aeruginosa* et chez les entérobactéries du groupe K.E.S (Klebsiella, Enterobacter, Salmonella) ont été décrites par les autres auteurs (2, 46, 52, 55).

La littérature fait état d'une activité bactéricide moindre par oppositions aux autres céphalosporines de 3^{ème} génération comme la cefsulodine, la ceftazidime ou la cefoperazone (4, 18, 45, 48, 50). La résistance de *Ps. aeruginosa* est naturelle.

Klebsiella pneumoniae quant à elle était au départ sensible (54), sa résistance pour les Bêta lactamines est :

◆ Soit de nature chromosomique, la mécanisme dans ce cas est lié

*à une hydrolyse enzymatique de l'ATB

* à une baisse de la perméabilité de la paroi

* à une modification de la structure de la paroi

ces mécanismes aboutissant à des mutants hyper résistants

◆ Soit de nature extrachromosomique impliquant des plasmides R, dont le port est fréquent chez les klebsielles de l'hospitalisme infectieux, ces plasmides R sont transférables et déterminent la résistance à plusieurs antibiotiques y compris la gentamycine.

◆ Soit une résistance mixte impliquant 2 mécanismes :

• résistance par mutation

• résistance plasmidique

La cefepime présente une activité comparable à celle de la ceftriaxone, en effet les valeurs de CMB obtenues dans notre étude sont superposables, avec une bonne répartition du rapport CMB/CMI et dans la majorité des cas ce rapport est compris entre 1 et 2.

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, le même niveau de résistance avec la ceftriaxone a été révélé.

L'activité bactéricide de l'aztréonam sur les bacilles Gram négatif a été moindre par rapport aux céphalosporines. D'après la littérature le spectre d'activité de l'aztréonam se limite aux bacilles Gram négatif y compris *Pseudomonas aeruginosa* (44),

Seuls les Proteus ont été pour la majorité des cas détruites à des concentrations atoxiques in vivo et proches des CMI sur une courte période.

Nos résultats pour les autres bacilles Gram négatif testées sont contraires à ceux de SY K. (51) dont l'étude à l'HALD a révélé une bonne activité de l'aztreonam sur *Escherichia coli*, Proteus, *Klebsiella pneumoniae*, Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa*, seules les souches d'Enterobacter ont été résistantes.

1.2 Activité Bactéricide in vitro des Quinolones.

De tous les antibiotiques testés, la ciprofloxacine a été de loin le plus efficace in vitro, cette activité supérieure a été constatée aussi bien chez les cocci Gram positif que chez les bacilles Gram négatif à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* Il y a eu peu de différences entre CMB et CMI, ce qui confirme l'étude de WOLF (56) avec des rapports CMB/CMI le plus souvent égal à 1.

1.2.1 Les cocci Gram positif

Toutes les souches de cocci Gram positif ont été neutralisées par la ciprofloxacine à des concentrations inférieures ou égales à 1mg/l. Aucune résistance n'a été enregistrée avec la ciprofloxacine. Son efficacité sur les S.A.R.M et sur les SAMS dans notre étude est en accord avec ceux de différents auteurs (35, 45, 51).

Une étude récente montre 100% de résistance chez 40 isolats de S.A.R.M (42), une autre montre une modification de certains caractères comme un test de l'ADN-ase négatif ou faible, une coagulase négatif sur lame chez certaines souches de S.A.R.M. résistants à la ciprofloxacine et à d'autres antibiotiques (40).

Toutes les souches d'*Enterococcus faecalis* ont été détruites à 0,5 mg/l, les souches de *Streptococcus pyogenes* ont été les plus sensibles avec une bactéricidie totale à 0,25 mg/l après 24h.

La fléroxacine a été moins efficace, on a noté des résistances chez *Enterococcus faecalis*, les S.A.M.S et les S.A.R.M ont révélé des intermédiaires, seules les streptocoques du groupe A ont été totalement sensibles.

Des résistances aux quinolones ont été relatées dans la littérature (1, 3,6) et ces résistances chez les cocci Gram positif concernant surtout : *Enterococcus faecalis* et les staphylocoques

I - 2 - 2 Les Bacilles Gram négatif

Aucune résistance n'a été décelé avec la ciprofloxacine chez les entérobactéries avec le plus souvent une destruction totale des souches à moins de 1 mg/l, cependant chez *Pseudomonas aeruginosa* 5 souches ont été résistantes.

La rapidité de l'effet bactéricide a été observée chez toutes les souches de Bacilles Gram négatif, même chez *Pseudomonas aeruginosa*, avec une destruction quasi totale après 4 heures.

Pour ce qui est de l'activité Bactéricide intrinsèque, le profil est le même pour tous les antibiotiques testés, beaucoup de publications témoignent de cette efficacité sur les enterobactéries (19, 20, 28, 31, 39, 41).

L'émergence de mutants résistants (5 cas de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* dans notre étude) pose des problèmes.

Les résistances s'expliquent par deux mécanismes :

- Un premier mécanisme de résistance dû à des mutations ponctuelles au niveau des sous-unités A et B (plus rarement) de l'ADN gyrase qui est la cible des fluoroquinolones (agissent par inhibition de cette dernière) (33,57),.Ce mécanisme est d'origine chromosonique.
- Un second mécanisme avec une baisse quantitative des porines entraînant une baisse de la pénétration des fluoroquinolones à l'intérieur

des bactéries. Ce mécanisme est probablement associé à un efflux actif des fluoroquinolones, chez les Bacilles Gram négatif. (13, 22).

Il ressort de notre étude une excellente activité in vitro de la ciprofloxacine ; cependant le risque de sélection de mutants résistants très élevé avec les quinolones et difficile à maîtriser, en outre la complexité du terrain in vivo en particulier le cas d'infections sévères comme les endocardites, les ostéomyélites ; le terrain d'immunodépression ou d'infection mixtes font que la recherche d'associations à synergie bactéricide soit nécessaire.

CONCLUSION

Au cours de certaines infections sévères comme les endocardites ou les osteomyelites ou encore chez les immunodéprimés, un traitement rigoureusement bactéricide s'impose.

Les molécules bactéricides disponibles en thérapeutique sont nombreuses, cependant leur efficacité se trouve ébranlée au fur et à mesure de leur utilisation par l'apparition de résistances bactériennes.

Pour démontrer progressivement leur efficacité et constituer une documentation utile pour la prescription empirique, des investigations fréquentes s'avèrent nécessaires.

Ainsi, notre étude apporte une contribution à ce problème, en testant in vitro l'activité bactériostatique et bactéricide de sept antibiotiques : cinq bêta lactamines (Pénicilline G, céfazoline, ceftriaxone, céfépime, aztreonam) et deux quinolones (ciprofloxacine et fléroxacine).

La méthode utilisée est celle de la microdilution sur microplaque.

Au total 90 souches ont été testées, des cocci Gram positif (33) aux bacilles Gram négatif (57). Ces souches bactériennes multirésistantes ont été isolées dans divers hôpitaux de Dakar et se répartissent comme suit :

- 9 *Escherichia coli*
- 10 *Klebsiella pneumoniae*
- 8 *Pseudomonas aeruginosa*
- 10 *Proteus mirabilis* et *P. vulgaris*

- 10 *Enterobacter cloacae*
- 10 *Salmonella spp*
- 10 *Staphylococcus aureus Methi R*
- 8 *Staphylococcus aureus Methi S*
- 10 *Enterococcus faecalis*
- 5 *Streptococcus pyogenes*

La détermination de la bactéricidie des antibiotiques a été suivie en fonction du temps. La pénicilline G et la céfazoline n'ont été testées que sur les cocci Gram positif.

S'agissant des Bêta lactamines

Il ressort de notre étude une mauvaise activité des Bêta lactamines sur les cocci Gram positif testés ; à l'exception des souches de *Streptococcus pyogenes* qui se sont montrées assez sensibles à presque tous les Bêta lactamines du test avec des CMB assez proches des CMI et avec des délais de lyse courts.

Chez les Bacilles Gram négatif les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et celles d'*Enterobacter cloacae* ont été les moins sensibles aux Bêta lactamines. Chez la plupart des entérobactéries, les Bêta lactamines accusent beaucoup plus des phénomènes de tolérances que de bactéricidies. Seules les souches de *Proteus* ont été détruites à des CMB très basses et voisines des CMI après seulement 1h de contact.

S'agissant des quinolones :

La ciprofloxacine a été indiscutablement le plus efficace in vitro. Cette efficacité a été observée aussi bien chez les cocci Gram positif que chez les

bacilles Gram négatif avec des CMB très basses atoxiques in vivo, comprises entre 0,25 et 1 mg/l supérieures ou égales à 2 x à la CMI.

Seuls 5 cas de résistance ont été enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa*. Si la ciprofloxacine a été très efficace, le score de la fléroxacine a été passable chez certaines souches, avec des taux de bactéricidie importants à des concentrations toxiques in vivo.

A l'issue de notre étude, des problèmes se posent :

- la monothérapie et le risque de sélection de mutants résistants.
- l'augmentation de la résistance chez des espèces au départ sensibles
- la relation coût-efficacité et pouvoir d'achat.

C'est pourquoi :

- Les associations à synergie bactéricide seront préférées à la monothérapie pour minimiser l'apparition de résistance.
- Les politiques du médicament doivent tenir compte que chez les sujets à risque l'administration de l'antibiotique le plus performant est une priorité et doivent ainsi rendre accessible ces produits à tous.



BIBLIOGRAPHIE**1- ACAR J. F., Buu - HOI A. Y.**

Résistance patterns of important Gram positive pathogens
J. Antimicrob. Chemother. : 1988 ; 22, suppl c

2- AUJAR Y.

Traitement des infections néonatales : place des céphalosporines
Press. Méd 1987 ; 43 (16) : 2176 - 2179

3- ALLOUCH P., GHASSIA J. C., LERROY C., BENOIT M., SIRE O.

Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la ciprofloxacine et à l'amikacine et sensibilité aux associations
Sem. Hop. PARIS ; 65, N° 35 : 2205 - 2210

4- BA M.

Etude des marqueurs épidémiologiques des souches de *Pseudomonas* isolées à Dakar.
Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1993, N° 79

5- BA S.

Phenotypage des souches de streptocoques sensibles aux aminosides
Thèse Pharmacie, DAKAR, 1995, N° 44

6- BALL P.

Emergent resistance to ciprofloxacine among *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* : clinical significance and therapeutic approaches.
J. antimicrob. Chemother. 1987 ; 19 : 271 - 280

7- BARBHAIYA R. H. and al

Pharmacokinetics of cefepime after single and multiple intravenous administration in healthy subjects.

Antimicrob. Agents chemother. 1992 ; 36 : 552 - 557.

Pres. Med 1985 ; 14 : 2081-3

8- BENSCART Le ROY O., SEUNEVILLE E., SIVERY B. CHIDIAC C., BILLIAN V., BEUCAIRE G. et MOUTONY

Utilisation de la ceftriaxone dans les infections broncho-pulmonaires de réanimation.

Méd. Mal. Infect., 1989 , hors série : 67 - 71

9- BERCHE P, GAILLARD J. L, SIMONET M.

Les Bactéries des infections humaines

Bactériologie, PARIS, 1988 , 564 p

**10- BINGEN E., LAMBERT - ZCHOVSKY N., MERCIER J. C ,
BEAUFILS F.**

L'antibiothérapie des infections nosocomiales de l'enfant.

Rev. Prat. (PARIS) , 1990 ; 40 (9) : 817 - 821

11- CHIN N. X

Comparative in vitro activity of the new fluroquinolone BMY - 40062

Env. J. Clin. Micro. Infect. Dis. 1990 ; 9 (8) : 620 - 4

12- CLUZEL , CHANAL M. , SIROT D., SIROT J.

Activité de la ceftriaxone in vitro sur les bactéries hospitalières ; droite de régression et valeurs critiques.

Pathol. Biol. 1985 ; 33 (5 bis) : 473 - 476

13- COHEN sp. , HOOPER DC , WOLLSON J.S , SOUKA KS.

Mc Murray. LM. LEVY S.

Endogenous active efflux of norfloxacin in susceptible *Escherichia coli*.

Antimicrob. Agents chemother. 1988 ; 32 : 1187 - 1191

14- DARVEAU R. and al

Influence of subinhibitory concentrations of cephalosporins on the serum sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa*.

J. infect. Dis. 1990 ; 162 : 914 – 921

15- DEFORGES L. , THOI LE VAN J. , SOUSSY C. J., DUVAL J.

Activité antibactérienne in vitro de huit céphalosporines de troisième génération.

Path. Biol. 1982 , 30 (6) : 363 - 369

16- DENIS F. , CADOZ M. , MBOUP S. , POUSSET M., PRINCE-DAVID M.

Avec la collaboration technique de GAYE A. et SENE S.

Etude préliminaire de l'activité antibac In vitro d'une nouvelle cephalosporine : La ROCEPHINE (RO 13 - 9904)

LYON MED. : 1981 ; 245 , 12 : 765 - 768

17 DIA B.

Etude de la résistance des staphylocoques et des streptocoques aux antibiotiques.

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1993 , N° 67

18 DUVAL J.

Evolution des résistances In le minor L. ; VERON M. -

Bactériologie médicale , PARIS , Flammarian, 1989 : 356 - 96

19- FAYE I.

Surveillance de la sensibilité aux Antibiotiques de souches bactériennes isolées à DAKAR : intérêt de l'utilisation de la technique E. test et du programme WHONET. 3

Thèse, Pharmacie, Dakar, 1997, n°07

20- GABASTOU JM, CHOUAKI T. , MANGEOT J. et COLL

Phénotypes de résistance aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés dans cinq centres hospitaliers spécialisés.

Etude multicentrique.

Path. Biol. 1995 ; 43, n° 4 : 320 - 3

21- GILBERT C., DOMART Y. , CHASTRE J.

Pathologies hospitalières dues aux staphylocoques résistants à la methicilline.

Press. Méd. 1985 ; 14 : 2081 - 3

22- **HOOPER DC , WOLLSON JS, SOUKA KS, MC MUGH GI, SWARZ M**

Mechanisms of quinolones résistance in *Escherichia coli* characterization of *nf x B* and *cf x b*, two mutants résistance loci decreasing norfloxacin accumulation.

Antimicrob. Chemother. 1989 ; 33 : 283 - 290

23- **H ALLER I**

Comprehensive évaluation of ciprofloxacin in combination with Bêta - lactam antibiotique against Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.

Arzh. Fons. 1986 ; 36 (2) : 226 - 9

24- **HUMBERT G.**

Ceftriaxone et infections urinaires

Méd. Mal. Infect., 1989 ; hors série : 78, 84

25- **JARLIER V., BISMUTH R. , CROSSET J.**

Cefotaxine , Moxalactam et ceftriaxone : comparaison de l'activité in vitro sur les souches hospitalières entérobactéries appartenant aux quatre principaux phénotypes de sensibilités aux Bêta lactamases.

Path. Biol. 1983 ; 31 (5) : 336 - 342

26 - **KASSE C.**

Sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoques isolées au CHU de DAKAR.

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1992 , N° 94

- 27 **KECHRID A. , BEN REDDED S., GERGOURI J. , BENHASSEN E. BOUJNAN A.**
Les streptocoques du groupe D et les enterocoques : identification, sensibilité aux antibiotiques et étude de la résistance haut niveau aux aminosides.
Méd. Trop., 1991 ; 51, (2) : 177 – 180
- 29 **MACHKA K., HETZ R.**
Comparative synergistic Activity of Cetriaxone , Piperacillin, versus ceftriaxone, Netilmicin.
J. Clin. Microbiol. 1983 : 496 - 500
- 30 **MAINARDI JL, GOLDSTEIN FW et GUTMANN L.**
Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques
ENCLYCL. MED. CHIR. (Elsevier, PARIS)
Maladies infectieuses, ; 8 - 005 - N - 10, 1996, 8P.
- 31- **MAURIN M., MUSSO D., CHARREL et coll**
Résistance aux antibiotiques des bactéries hospitalières (Bacilles à Gram négatif aérobies) situation 1992 à Marseille.
Méd. Infect. 1995 ; 25 : 508 - 14
- 32- **MODAI J.**
Cephalosporines orales : . Nouveauté et place en thérapeutique.
Rev. Prat. (PARIS) 1993 ; 43 (2) : 195 - 9

33- NAKAMURA S., NAKAMURA M., KOJIMA T. , YOSHIDA N.

Gyr A and Gyr B mutations in quinolone - resistant strains of *Escherichia coli*.

Antimicrob. Agents chemother. 1989 ; 33 : 254 - 255

34 NDIAYE Y. K.

Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance par sécrétion de Bêta lactamases à spectre élargi de souches de Bacilles Gram négatif au CHU de DAKAR.

Thèse , Pharmacie, DAKAR, 1992, n° 95

35 NDOYE I.

Evaluation de l'activité bactéricide des différents antibiotiques isolés et en association sur des souches bactériennes isolées au CHU de DAKAR.

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1993, N° 84

36- NEU G. H., MEROPOL N. J., FU K.P.

Antibacterial Activity of ceftriaxone (RO. 13 - 9904) a Bêta lactamase

Antimicrob. Agents chemother. 1981 : 414 - 423.

37 - NIKAIDO H and AL

Outer membrane permeability and Bêta lactamase stability of dipolar ionic cephalosporins containing methoxyimino substituents

Antimicrob. Agents chemother. 1990 ; 34 : 337 - 342.

38- PATTERSON JE. , MASECAR B.L., ZERVOS M. J..

Characterisation and comparaison of two penicillinases producing strains of *Enterococcus faecalis*.

Antimicrob. Chemother. 1988 ; 32 ; 122 - 124

39- PIDDOCK L. J. , WISE R.

Induction of the S.O.S. response in *Escherichia coli* by 4 quinolones.

J. antimicrob. Chemother ; 1987 ; 20 : 631 - 8

40- PIERONI P. , BUERT J. , GARCIA M. et coll

Staphylococcus aureus (MRSA) isolates involved in an outbreak at a large chemotherapy. Présenté à la Intescience conférence.

Antimicrob. Agents chemother ; 1997, Toronto, On Résumé J - 72

41- PINCHON T.M., Emerique P. ; et Demange C.

Consommation d'antibiotique s et profils de sensibilité de quelques micro-organismes dans un centre hospitalier général.

Méd. Mal. Infect. 1987 ; 3 : 124 - 7

42- PRESTON M. , LO H. , BOREZYK A.

More on the récent emergence of a new strain of MRSA in Ontaria.

Lab. Prof. Test. Prog. Newsl. 1997 ; 195 : 3.

43 -PRESTON M. , BOREZYK A. , LO H et coll

Emergence of methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* strains of phage type 95 in Ontario Canada.

Antimicrob. Agents chemother. 1997, toronto, on Resumé Y. 113

44- ROBERT - DERNUET

Antibiotiques et antibiogrammes

MONTREAL - PARIS - DECARIE - VIGOT, 1995, 322p.

45- SEYE K. G.

Etude «in vitro» de l'activité d'association d'Antibiotiques sur des souches bactériennes multiresistantes, isolées dans le CHU de DAKAR.

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1993, n° 82.

46- SICARD D., SENNHAUSER C., LAFFONT C., POCHET I.

Etude de l'activité Bactériostatique et Bactéricide de la ceftriaxone sur 200 bactéries isolées en milieu hospitalier.

Laboratoire de Microbiologie Hôpital de cimez - Nice - France et Paris.

Laboratoire Roche service Médical 1983.

47- SIEGLIDE W. S. ; MONZON C. M., AUBERT S., NEVINE

An epidemiological assesement of coagulase negative staphylococci from an intensive car unit.

Med. Microb. 1992 , 36 : 321 - 331.

48- SIROT D., SIROT J. LABIA R. and AL

Tranferable resistance to third génération cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* : identification of CRX - 1, a novel Beta lactamase.

J. Antimicrob. Chemother : 1987 ; 20 : 323 - 34

49- SOUSSY C. J., L VAN THOI J. , DUVAL J.

Activité antibactérienne de Norfloxacin, ofloxacin et ciprofloxacin en fonction des phénotypes de résistance à l'acide nalidixique et à la Pefloxacin.

Pathol. Biol. Paris, 1990 ; 38 (5) : 376 - 84

50- SUC CH.

Connaître les bactéries cibles qui justifient la prévention et la thérapeutique probabiliste pour les antibiotiques.

Med. Mal. Infec. 1987, NS : 31 - 35

51- SY K. R.

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Thèse. Pharmacie, DAKAR , 1996, n° 55

52- THABAUT A., MEYRAN M.

Nouvelles Bêta lactamines : Essai de classification.

Relation structure - Activité.

Path. Biol. 1985 ; 33 (5 bis) : 469 - 472.

53- TRAORE H.

Serogroupage et étude de la sensibilité aux antibiotiques des streptocoques hémolytiques isolés au CHU de DAKAR (étude portant sur 117 souches).

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1983 ; n° 47.

54 **TOURE N. C. K.**

Etude des marqueurs épidémiologiques des souches de Klebsielles à l'origine des septicémies et de méningites dans deux services de Néonatalogie du CHU de DAKAR.

Thèse, Pharmacie, DAKAR, 1989, n° 16

55- **WASHINGTON J. A., JONES R. ALLEN S. D., GERLACHE H.**

KOONTZ F., MURRAY P. R., PFALLER M. A., ERWIN M. E.

In vitro comparaison of GR 69153, a novel catechol - substituted cephalosporin, with ceftazidime and CRO against 5203 recents clinicales isolates.

Antimicrob. Agents ; chemother 1991 ; 25 (7) : 1508 -11.

56- **WOLF M.**

Apport thérapeutique de nouvelles quinolones.

Rev. Prat. (PARIS) 1987 ; 37 (21) : 1209 - 1214.

57- **YOSHIDA H., BOGAKI M. NAKAMURA M., NAKAMURA S.**

Quinolone resistance - determining region in the DNA gyrase gyr A gene of *Escherichia coli*.

Antimicrob. Chemother 1990 ; 34 : 755 - 758.

58- **ZSCHERK K. K., HULL R., MURRAY B. E.**

Restriction mapping and hybridation studies of Beta lactamase encoding fragment from streptococcus (*Enterococcus faecalis*).

Antimicrob. Agents chemother. 1988 ; 32 : 768 - 769.

Plan

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

1^{ERE} PARTIE : GENERALITES

I- METHODE DE DETERMINATION DE LA BACTERICIDIE : EFFETS

BACTERIOSTATIQUE ET BACTERICIDE D'UN ANTIBIOTIQUE	2
---	---

1.1- CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE.....	2
--	---

1.1.1 Méthode de dilution.....	3
--------------------------------	---

1.1.1 Méthode par diffusion : (Disques).....	3
--	---

II CONCENTRATION MINIMALE BACTERICIDE	4
---	---

III FACTEURS ASSOCIES AUX EPREUVES DE BACTERICIDIE	4
--	---

3-1 FACTEURS BIOLOGIQUES	5
--------------------------------	---

3.1.1- Présence de bactéries persistantes.....	5
--	---

3. 1.2 Effet paradoxal ou phénomène de EAGLE.....	5
---	---

3. 1.3 Phénomène de tolérance.....	6
------------------------------------	---

3. 1.4 Résistance phénotypique.....	6
-------------------------------------	---

3. 2. FACTEURS TECHNIQUES	7
---------------------------------	---

3. 2.1 La Phase de Croissance de l'Inoculum.....	7
--	---

3.2.2 La densité de l'inoculum.....	7
-------------------------------------	---

3.2.3 Le contact de la bactérie avec l'antibiotique.....	8
--	---

3.2.4 La Composition du Milieu.....	8
-------------------------------------	---

3.2.5 Le Transfert d'Antibiotique.....	8
--	---

IV LA RESISTANCE BACTERIENNE	9
------------------------------------	---

4.1 RESISTANCE NATURELLE ET RESISTANCE ACQUISE.....	9
---	---

4.2- MECANISME DE RESISTANCE	11
------------------------------------	----

4.2.1 Modification de la cible des antibiotiques.....	11
---	----

4.2.2 Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques.....	11
--	----

4.2.3 Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne	11
---	----

4.3 GENETIQUE DE LA RESISTANCE	12
--------------------------------------	----

4.3.1 Support chromosomique.....	12
----------------------------------	----

4.3.1.1 Mutation ponctuelle.....	12
----------------------------------	----

4.3.1.2 Remaniement du génome	12
-------------------------------------	----

4.3.1.2 Support extrachromosomique.....	12
---	----

2EME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

MATERIEL ET METHODES.....	13
I. SOUCHES BACTERIENNES ET ANTIBIOTIQUES	13
1.1 – SOUCHES BACTERIENNES.....	13
1.1.1 <i>Souches à tester</i>	13
1.1.2 <i>Souches de référence</i>	14
1.2. LES ANTIBIOTIQUES	15
II. MATERIEL ET REACTIFS.....	15
2.1 REIDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES.....	15
2.2 DETERMINATION DES CMI/CMB.....	16
2.2-1 <i>Matériel</i>	16
2.2-2 <i>Réactifs</i>	16
2.3 PREPARATION DES SOLUTIONS MERES D'ANTIBIOTIQUES	17
2.3-1 <i>Matériel</i>	17
2.3-2 <i>Réactifs</i>	17
2.4 MATERIEL POUR LA CONSERVATION	17
2.5 MATERIEL POUR L'ANALYSE DES RESULTATS	17
III. METHODES	18
3.1 PREPARATION DES SOLUTIONS MERES D'ANTIBIOTIQUES	18
3.2 PREPARATION DE L'INOCULUM.....	19
3.3 ENSEMENCEMENT DES MICROPLAQUES	19
3.4 LECTURE DES CMI ET DETERMINATION DES CMB.....	20
IV. CONTROLE DE QUALITE.....	20
RESULTATS ET COMMENTAIRES.....	23
DISCUSSION	43
I - ACTIVITE BACTERICIDE IN VITRO DES ANTIBIOTIQUES TESTES	43
1.1 ACTIVITE BACTERICIDE IN VITRO DES BETA LACTAMINES.....	43
1.1.1 <i>Les cocci Gram positif</i>	43
1.1.2 <i>Les Bacilles Gram négatif</i>	45

1.2 ACTIVITE BACTERICIDE IN VITRO DES QUINOLONES.....	47
1.2.1 <i>Les cocci Gram positif</i>	48
1 - 2 - 2 <i>Les Bacilles Gram négatif</i>	49
CONCLUSION	51
BIBLIOGRAPHIE	54