



**ETUDE COMPARATIVE DE DIFFERENTES
METHODES DE DETECTION
DES BETA-LACTAMASES SUR DES SOUCHES
BACTERIENNES ISOLEES A DAKAR**

THESE

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

présentée et soutenue publiquement

le 28 juillet 1993

par

Sokhna Diouck WADJI

Née le 25 Juillet 1965 à Diourbel (SENEGAL)



MEMBRES DU JURY

Président :

M. Ibrahima WONE

Professeur

M. Abibou SAMB

Professeur

M. Souleymane MBOUP

Professeur

M. Mamadou Badiane

Maître de Conférences agrégé

Directeur de Thèse : M. Souleymane MBOUP

Dr. Cheikh Saad Bouh BOYE

NOTE AUX LECTEURS

Ce document a été numérisé et mis en ligne par la Bibliothèque Centrale de l'Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR



Bibliothèque Centrale UCAD

Site Web: www.bu.ucad.sn

Mail: bu@ucad.edu.sn

Tél: +221 33 824 69 81

BP 2006, Dakar Fann - Sénégal

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

PERSONNEL DE LA FACULTE

DOYEN.....	M. René	NDOYE
PREMIER ASSESSEUR.....	M. Doudou	BA
DEUXIEME ASSESSEUR.....	M. Ibrahima Pierre	NDIAYE
CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS	M. Assane	CISSE

Liste du Personnel Etablie au 19 Avril 1993

I. - Médecine

Professeurs Titulaires

M	Salif	BADIANE	Maladies infectieuses
M.	Oumar	BAO	Thérapeutique
M.	Hervé	DE LAUTURE	Médecine préventive
M.	Fadel	DIADHIOU	Gynécologie obstétrique
M.	Lamine	DAKHATE	Hématologie
M.	Samba	DIALLO	Parasitologie
M.	Adrien	DIOP	Chirurgie générale
M.	El Hadj Malick	DIOP +	O.R.L
Mme	Thésése MOREIRA	DIOP	Médecine interne (clinique médicale I)
M.	Sémou	DIOUF	Cardiologie
M.	Mohamadou	FALL	Pédiatrie
M.	Pierre	FALTOT +	Physiologie
M.	Mamadou	GUEYE	Neuro chirurgie
M.	Papa Abdourahmane	KANE	Pneumophtisiologie
M.	Nicolas	KUAKUVI	Pédiatrie
M.	Aristide	MENSAH	Urologie
M.	Bassirou	NDIAYE	Dermatologie
M.	Ibrahima Pierre	NDIAYE	Neurologie
M.	Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
M.	Papa Demba	NDIAYE	Anatomie pathologique
M.	René	NDOYE	Biophysique
M.	Idrissa	POUYE	Orthopédie traumatologie
M.	Abibou	SAMB	Bactériologie virologie
M	Abdou	SANOKHO *	Pédiatrie
Mme	Awa Marie COLL	SECK	Maladies infectieuses
M	Dédéou	SIMAGA +	Chirurgie générale
M	Abdourahmane	SOW *	Maladies infectieuses
M	Ahmédou Moustapha	SOW	Médecine interne (clinique médicale II)
M.	Moussa Lamine	SOW	Anatomie
M.	Cheikh Tidiane	TOURE +	Chirurgie Générale
M.	Papa	TOURE	Cancérologie
M.	Alassane	WADE	Ophthalmologie
M	Ibrahima	WONE	Médecine préventive

(+) Professeur associé

(*) Personnel en détachement

Professeur sans Chaire

M. Ibrahim SECK Biochimie Médicale

Professeur en Service Extraordinaire

M. Pierre LAMOUCHE Radiologie

Maîtres de Conférences Agrégés

M.	José-Marie	AFOUTOU	Histologie-embryologie
M.	Mohamed Diawo	BAH	Gynécologie obstétrique
M.	Mamadou Dakhité	BALL	Dermatologie
M.	Fallou	CISSE	Physiologie
M.	Baye Assane	DIAGNE	Urologie
M.	Babacar	DIOP	Psychiatrie
M.	El Hadj Ibrahim	DIOP	Orthopédie traumatologie
M.	Saïd Nourou	DIOP	Médecine interne (clinique médicale II)
M.	Souvassin	DIOUF	Orthopédie traumatologie
Mme	Sylvie SECK	GASSAMA	Biophysique
M.	Momar	GUEYE	Psychiatrie
M.	Abdoul Almamy	HANE	Pneumophtisiologie
M.	Alain	LE COMTE	Biophysique
M.	Salvy Léandre	MARTIN	Pédiatrie
M.	Jean Bernard	MAUFERON x	Neurologie
M.	Jehan Mary	MAUPPIN x	Anatomie
M.	Victorino	MENDES	Anatomie Pathologique
M.	Madoune Robert	NDIAYE +	Ophthalmologie
M.	Mbayang NIANG	NDIAYE	Physiologie
M.	Mohamed Fadel	NDIAYE	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Mamadou	NDOYE x	Chirurgie Infantile
M.	Bineta KA	SALL	Anesthésie- Réanimation
M.	Mamadou	SARR	Pédiatrie
M.	Seydina Issa Laye	SEYE	Orthopédie- Traumatologie
M.	Mamadou Lamine	SOW	Médecine Légale
M.	Housseyn Dembel	SOW	Pédiatrie
M.	Oumar	SYLLA	Psychiatrie

(+) Maître de conférence associé

(x) Maître de conférence associé

(+) Maître assistant associé

Chargé d'Enseignement

M.	Mamadou	BA	Pédiatrie
M.	Jean Pierre	BENAI S	Médecine Légale
M.	Aly	NGOM §	Gynécologie / Obstétrique

Maîtres-Assistants

M.	Serigne Abdou	BA	Cardiologie
M.	Moussa	BADIANE	Radiologie
M.	Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie- Virologie
M.	Abdarahmane	DIA	Anatomie
M.	Bernard Marcel	DIOP	Maladies Infectieuses
M.	Babacar	FALL	Chirurgie Générale
M.	Ibrahima	FALL	Chirurgie Générale
M.	Oumar	GAYE	Parasitologie
M.	Claude	MOREIRA +	Pédiatrie
M.	Jean-Charles	MOREAU	Gynécologie-Obstétrique
M.	Adama Bandiougou	NDIAYE	Immunologie (Hématologie)
M.	Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie Générale
M.	Mohamadou Guèlaye	SALL	Pédiatrie
M.	Niama DIOP	SALL	Biochimie Médicale
M.	Papa Amadou	NDIAYE	Ophthalmologie
M.	Moustapha	SARR *	Cardiologie
M.	Gora	SECK	Physiologie
Mme	Haby SIGNATE	SY	Pédiatrie
M.	Doudou	THIAM	Hématologie

Assistants de Faculté- Assistants des Services Universitaires des Hôpitaux

M	Jean Marie	DANGO U	Anatomie Pathologique
M	Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
M.	Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-embryologie
M.	Yémou	DIENG	Parasitologie
M.	Dialo	DIOP	Bactériologie- Virologie
M.	Mamadou	DIOP	Anatomie
M.	Moctar	DIOP	Histologie- Embryologie

- (+) Chef de clinique
 (§) Personnel mis en disponibilité
 (+) Maître assistant associé

(*) En stage

M.	Oumar	FAYE	Parasitologie
M.	Oumar	FAYE	Histologie-embryologie
Mme	Gisèle WOTO	GAYE	Anatomie Pathologique
M.	Lamine	GUEYE	Physiologie
M.	Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie
M.	Nioma DIOP	SALL	Biochimie Médicale
M.	Ahmad yane	SOW	Bactériologie-Virologie
Mme	Hassanatou TOURE	SOW	Biophysique
Mme	Anta	TAL	Médecine Préventive
M	Kamadore	TOURE	Médecine Préventive
M.	Meïssa	TOURE	Biochimie Médicale

Chefs de Clinique-Assistants des Services

M.	El Hadj Amadou	BA	Ophthalmologie
M.	Mamadou	BA	Urologie
M.	Marième GUEYE	BA	Gynécologie-Obstétrique
M.	Momar Codé	BA	Neuro-Chirurgie
M	Moussa	BA	Pédiatrie
M.	Seydou Boubakar	BADIANE	Neuro-Chirurgie
M	Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
M.	El Hadj Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
M.	Cheikh Ahmed Tidiane	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
Mme	Mariama Safiétou KA	CISSE	Médecine Interne (Clinique Médicale II)
Mme	Elisabeth FELLER	DANSOKHO	Maladies Infectieuses
M.	Massar	DIAGNE +	Neurologie
M.	Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
M	Saïdou	DIALLO	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Papa Ndiouga	DIENG	Anesthésie-Réanimation
M.	Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M.	Ibrahima Bara	DIOP	Cardiologie
M.	Rudolph	DIOP *	Stomatologie
M.	Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M.	Boucar	DIOUF	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Ibrahima Fodé	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M.	Mamadou Lamine	DIOUF *	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Raymond	DIOUF	O. R. L
M	Saliou	DIOUF	Pédiatrie

(*) En stage

(+) Chef de clinique - assistant associé

M.	Serigne Magueye	GUEYE * +	Urologie
M.	Mamadou Mourtalla	KA +	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Abdoul	KANE	Cardiologie
M.	Assane	KANE	Dermatologie
M.	Abdoul Aziz	KASSE +	Cancérologie
M.	David River	KERE	Cancérologie
M.	Georges	KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
M.	Aminata DIACK	MBAYE	Pédiatrie
M.	Ismaïla	MBAYE	Médecine Légale
M.	Mouhamadou	MBENGUE +	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Amadou Koura	NDAO	Neurologie
Mme	Mame Awa FAYE	NDAO	Maladies Infectieuses
Mme	Coura SEYE	NDIAYE	Ophtalmologie
M.	Issa	NDIAYE	O.R.L
M.	Ousmane	NDIAYE	Pédiatrie
M.	Nafissatou Bathily	NDOYE	Ophtalmologie
M.	Thierno Souleymane	NIANE	Pneumophtisiologie
M.	El Hadji	NIANG	Radiologie
M.	Abdoulaye	POUYE	Médecine Interne (Clinique Médicale I)
M.	Youssoupha	SAKHO +	Neuro-Chirurgie
M.	Anne Aurore	SANKALE	Chirurgie Générale
M.	Doudou	SARR	Psychiatrie
M.	Amadou Makhtar	SECK	Psychiatrie
M.	Birama	SECK	Psychiatrie
M.	El Hassane	SIDIBE	Médecine Interne (Clinique Médicale II)
M.	Masserigne	SOUMARE +	Maladies Infectieuses
M.	Charles Mouhamed	SOW	Orthopédie-Traumatologie
M.	Daouda	SOW	Psychiatrie
M.	Papa Salif	SOW +	Maladies Infectieuses
M.	Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
M.	Cheikna	SYLLA	Urologie
M.	Alé	THIAM	Neurologie

Attachés-Assistants des Sciences Fondamentales

M.	Aliou	KEBE	Physiologie
M.	El Hadj Alioune	LO	Anatomie
M.	Mamadou	MBODJ	Biophysique
M.	Oumar	NDOYE	Biophysique
M.	Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
Mme	Khadissatou FALL	SECK	Hématologie
Mme	Catherine JUGIE	THERON	Biophysique (Radio Immunologie)
M.	Issa	WONE	Médecine Préventive

(*) En stage

(+) Chef de clinique assistant associé

Attachés-Chefs de Cliniques

Mme	Mame Coumba GAYE	FALL	Médecine Légale
M.	Kalidou	KONTE	Urologie
M.	Didier	LEBOULLEUX	Maladies Infectieuses
M.	Ismaël	TIDJANI	Urologie

II. - Chirurgie Dentaire

Professeurs Titulaires

M.	Ibrahima	BA	Pédiatrie-Prévention
Mme	Ndioro	NDIAYE *	Odontologie-Préventive et Sociale

Maîtres de Conférence Agrégés

M.	Gilbert	LARROQUE §	Odonto-Stomatologie
----	---------	------------	---------------------

Maîtres-Assistants

M.	Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
Mlle	Fatou	GAYE	Dentisterie Opératoire
Mme	Charlotte FATY	NDIAYE	Pathologie et Thérapeutique Spéciale
M.	Malick	SEMBENE	Parodontologie
M.	Abdoul Aziz	YAM	Pathologie et Thérapeutique Spéciale

Assistants de Facultés

Mme	Christiane AGBOTON	JOHNSON §	Prothèse Dentaire
Mme	Aïssatou TAMBA	BA	Pédodontie-Prévention
Mme	Khady DIOP	BA	Orthopédie Dento-Faciale
Mme	Maïmouna	BADIANE x	Dentisterie Opératoire
M	Daouda	CISSE	Odontologie-Préventive et Sociale
M.	Falou	DIAGNE +	Orthopédie Dento-Faciale
M	Adam Marie Awa SECK	DIALLO	Parodontologie
M.	Boubacar	DIALLO +	Odontologie Chirurgicale
M.	Afissatou NDOYE	NDOYE	Dentisterie Opératoire
Mme	Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M.	Libasse	DIOP	Prothèse Dentaire
M.	Mamadou Moustapha	GUEYE	Odontologie-Préventive et Sociale
M.	Abdoul Wahabe	KANE	Dentisterie Opératoire
M	Malick	MBAYE +	Dentisterie Opératoire
Mme	Paulette Mathilde AGBOTON	MIGAN	Matières Fondamentales

M.	Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
Mme	Maye Ndaye NDOYE	NGOM	Parodontologie
M.	Mohamed Talla	SECK x	Prothèse Dentaire
Mme	Soukèye DIA	TINE	Pathologie et Thérapeutique Spéciale
M.	Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire
M	Younes	YOUNES	Prothèse Dentaire

Attachés

M.	Cheikh	NDIAYE	Prothèse Dentaire
----	--------	--------	-------------------

- (x) En stage
- (§) Personnel mis en disponibilité
- (+) Maître assistant associé

III. - Pharmacie

Professeurs Titulaires

M.	Doudou	BA	Chimie Analytique
M.	Marc	DAIRE *	Physique Pharmaceutique
M.	Issa	LO	Pharmacie Galénique
M.	Souleymane	MBOUP *	Bactériologie-Virologie

Maîtres de Conférences Agrégés

M.	Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique
M.	Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie
M.	Mounirou	CISS	Toxicologie
M.	Balla Moussa	DAFFE	Pharmacognosie
M.	Babacar	FAYE +	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	Omar	NDIR +	Parasitologie

Chargés d'Enseignement

Mme	Geneviève	BARON	Biochimie Pharmaceutique
M.	Michel	POTDEVIN	Physique Pharmaceutique
M.	Bernard	WILLER	Chimie Analytique

Maîtres-Assistants

M.	Cheikh Saad Bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
M.	Papa Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique
M.	Amadou	DIOUF	Toxicologie
Mme	Rita BEREHOUDOU	NONGONIERMA	Pharmacognosie
Mme	Urbane TANGUY	SAVREUX	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
Mme	Anne RICHARD	TEMPLE	Pharmacie Galénique

(*) Professeur associé

(+) Maître assistant associé

Assistants

Mlle	Issa Bella	BAH	Parasitologie
M.	Aynina	CISSE +	Physique Pharmaceutique
Mme	Aïssatou GAYE	DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mme	Aminata SALL	DIALLO	Physiologie et Pharmacodynamie (Pharmacologie et pharmacodynamie)
M.	Mamadou Sadialiou	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
M.	Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
Mlle	Thérèse	DIENG	Parasitologie
M.	Alioune	DIEYE	Biochimie Pharmaceutique
M.	Ahmedou Bamba Koueimel	FALL	Pharmacie Galénique
Mme	Aminata SANOKHO	GUEYE	Pharmacologie et pharmacodynamie
Mme	Monique	HASSELMAN	Toxicologie
M.	Modou	LO	Botanique
Mme	Philomène	LOPEZ	Biochimie Pharmaceutique
M.	Tharcisse NKULIKYE	MFURA	Chimie Analytique
Mme	Maguette Dème SYLLA	NIANG	Biochimie Pharmaceutique
Mme	Aïssatou GUEYE	SANKHARE	Toxicologie
M	Elimane Amadou	SY +	Chimie Générale et Minérale
M.	Oumar	THIOUNE *	Pharmacie Galénique
M.	Mohamed Archou	TIDJANI	Pharmacologie et pharmacodynamie

Attachés

M.	Idrissa	BARRY	Pharmacognosie
Mlle	Ourèye	DABO	Pharmacognosie
M.	Mohamed	DIAWARA	Physique Pharmaceutique
M.	Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie et pharmacodynamie
M.	Alioune Badara	DIOP	Pharmacie Galénique
M.	Djibril	FALL	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M.	Aly Coto	NDIAYE	Physiologie et Pharmacodynamie (Pharmacologie et pharmacodynamie)
Mme	Maimouna NIANG	NDIAYE	Physiologie et Pharmacodynamie (Pharmacologie et pharmacodynamie)
M	Boubacar	NIANE	Chimie Analytique
M	Matar	SECK	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
M.	Mamadou	TOURE	Biochimie Pharmaceutique
M	Alassane	WELE	Chimie Physique

(*) En stage

(+) Maître de conférence agrégé associé

**AU NOM DU TOUT
PUISSANT ET A SON
PROPHETE MOHAMED
(P. S. L)
JE DEDIE CE TRAVAIL**

\$\$\$

\$

AU VENERÉ
CHEIKH AHMADOU BAMBÀ MBACKÉ
ET
TOUS LES SAINTS-HOMMES
DE NOTRE PAYS

A LA MEMOIRE DE MES GRAND-PARENTS

A LA MEMOIRE DE FATOU MBACKE WADJI

Tu es partie en laissant le vide dans notre coeur. Nous ne pourrons jamais t'oublier.

Que Dieu t'accueille dans son Paradis.

A LA MEMOIRE DE NOTRE PROFESSEUR GUY MEYNART QUE NOUS REGRETTONS TOUS.

A MON PERE

Ta générosité sans limite, ton esprit de sacrifice et ta détermination m'ont toujours donnée le courage et la persévérance.

Continue à prier pour la réussite de tes enfants, pour que nous puissions t'épauler d'avantage dans tes lourdes tâches.

A MA MERE

Tu as toujours été brave, humble et dévouée à la famille.

Soit récompensée pour tous tes efforts

A MON HOMONYME ET MERE ADOPTIVE

Je ne saurais être à la hauteur des nombreux sacrifices auxquels tu as consentis pour me donner une bonne éducation et pour que je ne sois privée de rien.

Je te promets de tout faire pour mériter l'Amour que tu me voues et pour jouer le rôle de la fille que tu n'as pas eue.

Que Dieu t'accorde longue vie pour que nous partagions les fruits de ce travail.

**A MES FRERES ET SOEURS : CHEIKH, AWA, SAGAR, PA
AHMED, TALLA, MALICK, FATOU MBACKE,
BIRANE, FALLOU, ALLE, PAPE SALL**

Sans votre soutien et votre affection, je ne saurais venir à bout de toutes les difficultés. Continuons à entretenir cette belle fraternité pour que notre famille reste unie et solidaire pour toujours.

Aux plus jeunes, que ce travail vous serve d'exemple.

A NOTRE AINEE NDEYE

Ta place dans la famille te confère beaucoup de responsabilité que tu as toujours su assumer.

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, Makhout et toi.

**A MA GRAND-MERE MAREME GUEYE, MES TANTES
FATOU NDIM, NOGAYE GASSAMA ET TOUTE LA
FAMILLE DE MON ONCLE THIerno FALL**

Je suis confuse devant votre dévouement et votre tendresse à mon égard.

**A MES TANTES YACINE, ARAME, OULEYE
ET AMY SIDIBE**

A MES GRAND-MERES KHADY GUEYE ET MAGUETTE SA

**A TOUTE LA FAMILLE DE MA TANTE
MBAJING GUEYE ET DE MES ONCLES ISSA
ET EL HADJI GUEYE**

A MES ONCLES CHEIKH ET GORMACK WADJI

A MAMADOU WADJI

J'ai toujours pu compter sur toi

A LA FAMILLE DE MON ONCLE EL HADJI CHEIKH DIOP

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A MON BEAU-FRÈRE DAME WADJI

Ta générosité a forgé notre estime.

A MES ONCLES ALIOUNE TOURE ET BIRANE THIAM

Vous avez toujours soutenu Papa.

**A KHADY THIAM ET A LA FAMILLE DE TONTON
MBAÏE GUEÏE**

A MAMADOU SENE, MON FRÈRE

A TAPHA NIASSE ET FAMILLE

A TONTON SERIGNE THIAM D'IOF

**A MA TANTE MAME PENDA DILOUEK ET MON ONCLE
GORA THIAM**

Vous m'avez comblée d'affection.

A MA COUSINE ET AMI SOKHNA MAR

Pour ton soutien sans faille.

A AMY WADJI

Ma confidente.

**A TOUTE LA GRANDE FAMILLE : ONCLES, TANTES,
COUSINS, COUSINE, NIECES, NEVEUX.**

A MA COPINE D'ENFANCE NDEÏE OUMY SECK

Je suis fier de ton amitié.

A LA FAMILLE THIAM DE RUFISQUE

A MES AMIS CAMEROUNAIS

Merci pour votre soutien.

A MES CAMARADES DE PROMOTION

Pour les bons moments que nous vous passés ensemble.

**A MADO DIALLO ET A TOUTES LES FILLES AVEC QUI
J'AI PARTAGE LA CHAMBRE 8 C**

Vous m'avez mise dans des conditions idéales de travail par
l'entente et la solidarité qui ont toujours régné entre nous.

Ce travail est aussi le vôtre.

**A FATOU M'BLINGUE, MAME YACINE ,ASTOU WAR,
BEBE ABLAYE FALL ET**

**A TOUS MES AMI(E)S DONT JE NE SAURAI CITER
ICI LES NOMS .**

Je sais que vous avez été tous de coeur avec moi.

A TOUS CEUX QUI M'ONT AIMEE

A MON FUTUR MARI.

A L'A.D.K.C.I.F

Pour l'union et le développement dans notre quartier.

**A LA PAIX ET LA JUSTICE POUR TOUS LES HOMMES,
POUR QUE LA SINCERITE ET LA VERITE SOIENT LES
MAITRES DE NOTRE MONDE.**

**À NOS MAÎTRES
ET JUGES**

**A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY
LE PROFESSEUR IBRAHIMA WONE**

Vous nous avez honorée en acceptant spontanément de présider le jury de notre thèse.

Vous avez toujours montré un grand intérêt à tout ce qui touche à notre formation.

Vous êtes en cela plus qu'un Maître mais un Père.

Le grand art avec lequel vous nous inculquez vos connaissances nous a séduit.

Avec tout le respect et toutes les considérations , nous vous prions de bien vouloir agréer nos sentiments de profonde gratitude.

**A NOTRE MAÎTRE ET JUGE
LE PROFESSEUR ABIBOU SAMB**

Vous nous avez fait un grand honneur en siégeant dans le jury de notre thèse.

Votre esprit critique et votre perspicacité sont reconnus par tous.

Nous sommes reconnaissants de la dimensions de votre apport dans ce travail et vous remercions infiniment.

**A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE
LE PROFESSEUR SOULEYMANE MBOUP**

Nous ne saurons assez vous remercier d'avoir méticuleusement supervisé ce travail qui porte la marque de votre sérieux, de votre rigueur et de votre sens du devoir accompli.

Vous n'avez ménagé aucun effort pour nous mettre dans les meilleures conditions de travail et demeurer toujours disponible à notre égard.

Soyez assuré de toute notre reconnaissance.

**A NOTRE MAÎTRE ET JUGE
LE MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGREGÉ
MAMADOU BADIANÉ**

Malgré votre calendrier très chargé, vous avez accepté de juger ce travail.

Vous nous confirmez par la même occasion votre disponibilité, votre simplicité et vos grandes qualités humaines qui font la fierté de tous les étudiants.

Permettez-nous de vous exprimer notre sincère estime.

REMERCIEMENTS

Ce travail qui aurait pu être très laborieux, a été rendu facile parce que les uns et les autres y ont apporté leurs contributions.

**AU PERSONNEL DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE
ET VIROLOGIE DE L'HOPITAL ARISTIDE LE DANTEC**

AU DOCTEUR PAPE A. DIOP

A MADAME SOGOBA

**A TOUT LE PERSONNEL DE LA PHARMACIE DE
L'HOPITAL ARISTIDE LE DANTEC.**

A SAMBA YADE

Je suis reconnaissante de ton aide.

A MADemoiselle MARIEME DIAGNE

Pour l'apport dans la réalisation de cet ouvrage.

" Par délibération, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation "

PLAN

- - -

PAGES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	
CHAPITRE I : LA RESISTANCE BACTERIENNE	3
I.1. Notion de résistance	3
I.2. Différents types	"
I.2.1. Résistance naturelle	"
I.2.2. Résistance acquise	4
I.3. Mécanisme de résistance	"
I.3.1. Génétique	"
I.3.1.2. Résistance chromosomique.....	5
I.3.1.1. Résistance plasmidique	6
I.3.2. Chimique	8
I.3.2.1. Par imperméabilité	"
I.3.2.2. Par absence ou modification de PLP	12
I.3.2.3. Enzymatique	13
CHAPITRE II : BETA LACTAMASES	
II.1. Rappel sur les Betalactamines	16
II.2. Structure - Origine - localisation	19
II.3. Mécanisme d'action et classification	21
II.4. Classification des β lactamases	23
II.5. Inhibiteurs des β lactamases	28
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL	
CHAPITRE I : CADRE DE L'ETUDE	
I.1. Hopital A.Le DANTEC	34
I.2. Laboratoire de Bactériologie	35
CHAP II : METHODOLOGIE	
II.1. Souches bactériennes	37
II.2. Réactifs et Matériel de laboratoire	39
II.3. Méthodes	40
II.3.1. Pour la détection des β lactamases à spectre étroit	41

II.3.2. Pour la détection des bêta-lactamases à large spectre	44
- Méthode de synergie	
II.3.3. Classification des bêta-lactamases en fonction du test utilisé	45
Chapitre III : RESULTATS	
III.1. Caractéristique des souches	47
III.2. Résultats globaux	49
III.2.1. Fréquence des β lactamases	"
III.2.2. Positivité des tests	54
III.3. Répartition des β lactamases en fonction des souches ...	56
III.3.1. Chez les Cocci	"
III.3.2. Chez les bacilles	57
III.4. Fréquence des β lactamases et sensibilité aux β lactamines	58
III.4.1. Souches sécrétant une pénicillinase	"
III.4.2. Souches sécrétant une céphalosporinase ...	60
III.5. Positivité des tests	62
III.6. Corrélation entre les tests	75
Chapitre IV : DISCUSSION	
IV.1 β lactamase et résistance bactérienne	83
IV.1.1. Pour les Cocci	84
IV.1.2. Pour les bacilles	86
IV.1.2.1. β lactamase à spectre étroit	"
IV.1.2.2 β lactamase à large spectre	87
IV.2. Corrélation : méthodes de détection et souches bactériennes.....	88
CONCLUSION	92
BIBLIOGRAPHIE	96

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	:	Acide désoxyribonucleique
Ala	:	Alanine
Amox	:	Amoxicilline
Api	:	Appareil et procédés d'identification
Arg	:	Arginine
ATB	:	Antibiotique
AMC	:	Amoxicilline + acide clavulanique (Augmentin ^R)
BN	:	Bas niveau
BCP	:	Bromocresol pourpre
BLSE	:	Bêta-lactamase à spectre élargi
CAT	:	Chloramphénicol acyl transférase
CAZ	:	Céftazidine
CF	:	Céfopérazone
CHU	:	Centre Hospitalier Universitaire
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
CRU	:	Ceftriaxone
CTX	:	Céfotaxime
CUR	:	Céfuroxime
Glu	:	Glutamine
Glu	:	Acide glutamique
Gly	:	Glycine
H.A.L.D.	:	Hôpital Aristide Le Dantec
HIV	:	Human Immuno deficiency virus
HN	:	Haut niveau
Leu	:	Leucine
Lys	:	Lysine
MH	:	Muller Hington
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PBP	:	Protein binding Penicillin
PBS	:	Phosphate Buffer Salin
Phe	:	Phenyl alanine
PLP	:	Proteine liant la Penicilline
Ser	:	Sérine
Th	:	Thréonine

INTRODUCTION

L'antibiothérapie est d'un apport fondamental dans l'évolution de la médecine humaine et plus particulièrement de la thérapeutique anti-infectieuse.

En effet, la découverte de la Pénicilline en 1929 par Fleming (qui l'extrait du *Penicillium notatum*) a permis de venir à bout d'affections jusqu'alors considérées de pronostic fatal.

Depuis, d'autres antibiotiques ont vu le jour avec des spectres de plus en plus élargis ceci pour pallier les imperfections des premières molécules. Après les produits d'extractions, apparurent les antibiotiques semi-synthétiques puis ceux de synthèse totale.

Pendant ce temps, les germes, pour s'adapter à un univers envahi par les antibiotiques ont fini par trouver des moyens pour contrecarrer cette arme. Ainsi, on assiste à la sélection de bactéries de plus en plus résistantes. Cette résistance peut emprunter plusieurs mécanismes allant de l'imperméabilité de la membrane, à l'altération du site d'action de l'antibiotique et à la sécrétion d'enzymes inactivantes. Cependant, on s'est rendu compte que de tous ces mécanismes, le dernier est le plus important car étant celui qui est le plus souvent mis en jeu et le plus facile à mettre en évidence.

Plusieurs enzymes peuvent être secrétées par les bactéries mais les β lactamases occupent une place de choix dans la mesure où elles servent à inactiver les β lactamines qui constituent la famille la plus représentative des antibiotiques. Leur mise en évidence peut se faire à partir de l'observation de l'antibiogramme notamment de la zone d'inhibition qui donne l'aspect de "colonies squallers". Elle peut aussi se faire par l'augmentation brusque de la CMI.

En plus il existe plusieurs tests qui permettent de mettre en évidence ces β lactamases. Il s'agit des techniques microbiologiques (test de Gots), des techniques iodimétriques, des techniques acidimétriques et des techniques chromogéniques).

Ces techniques étant de sensibilité, de spécificité et de facilité de réalisation différentes nous avons initié cette présente étude pour essayer de les comparer.

En outre, les β lactamases étant elles même différentes par leurs structures, leur spectre d'activité et leur nature, nous voulons par cette même occasion essayer de les classer en fonction des substrats qu'elles hydrolysent.

Ainsi notre étude s'articulera autour de trois parties. En premier lieu, par des généralités nous nous pencherons sur l'étude de la résistance bactérienne et en particulier sur les β lactamases. La deuxième partie sera consacrée au travail personnel qui englobera une présentation du cadre de l'étude, des matériels et méthodes utilisées des résultats obtenus et enfin la discussion.

PREMIERE PARTIE :
GENERALITES

CHAPITRE 1 :
LA RESISTANCE BACTERIENNE

I.1) Notion de résistance

La résistance bactérienne a été décrite dès les premiers succès de l'antibiothérapie. Ainsi vers 1940, on s'est rendu compte que 80 % des souches de *S. aureus* étaient résistantes à la Pénicilline (65).

En 1959 a été introduite l'isoxazolyl-Pénicilline pour pallier les imperfections de la Pénicilline mais les staphylocoques opposèrent à cette arme la Méthi-Résistance.

En 1945 virent le jour, les céphalosporines cependant leur puissance fut limitée par la stratégie des bactéries de sécréter des céphalosporinases pour les attaquer et même les céphalosporines de 3ème génération nouvellement synthétisées n'échappent plus à cette forme de résistance.

Définition : La résistance bactérienne peut être conçue sous différents angles. Nous considérons un germe résistant s'il est en mesure de supporter des concentrations d'antibiotiques habituellement capables d'inhiber la croissance des souches de même espèce (1).

Cette résistance se manifeste sur le plan clinique par des échecs thérapeutiques. Elle est confirmée au laboratoire soit par l'augmentation brutale de la CMI ou bien par une diminution de la zone d'inhibition au niveau de l'antibiogramme(45) . Cette résistance peut aussi être mise en évidence par la détection d'une sécrétion enzymatique, soit par la description du mécanisme génétique responsable (1).

I.2) Différents types de résistance

I.2.1) Résistance naturelle (49)

Elle correspond à l'insensibilité de la souche à l'antibiotique considérée. Cette insensibilité se manifeste d'emblée et elle est permanente chez toutes les souches de même espèce.

Le déterminisme de cette résistance est d'ordre génétique. Elle caractérise l'espèce bactérienne et on peut s'y référer pour définir le spectre d'activité

d'un nouvel antibiotique. On peut citer l'exemple des souches de *Pseudomonas aeruginosa* qui sont insensibles à la Pénicilline G, des *Proteus mirabilis* insensibles aux Tétracyclines, de la résistance des Streptocoques aux Polymyxines.

I.2.1) Résistance acquise

Au cours de l'utilisation d'un antibiotique, une souche peut se révéler résistante par une élévation brutale de sa CMI. on parlera de résistance acquise. Elle est due secondairement à une mutation ou à un transfert de résistance.

Dans certains cas, un certain nombre de souches est résistant alors que d'autres souches sont sensibles, c'est le cas de *Escherichia coli* dont 30 à 60 % des souches sont résistantes aux Tétracyclines : il s'agit de la résistance primaire (49).

I.3) Mécanismes de résistance

Les bactéries sont résistantes par acquisition d'un matériel génétique de résistance chromosomique ou plasmidique. Nous parlerons d'abord du déterminisme génétique avant d'aborder le mécanisme biochimique de la résistance.

I.3.1) Mécanisme génétique

Le mécanisme de la résistance aux antibiotiques s'explique par une altération du matériel génétique de la cellule bactérienne. Cette altération peut concerner le matériel endogène (résistance par mutation) ou bien l'acquisition de matériel exogène ou plasmide. Ceci permet de distinguer la résistance chromosomique et la résistance plasmidique.

I.3.1.1) Résistance chromosomique

Chez la bactérie, le chromosome est constitué d'un ADN bicaténaire circulaire qui représente le matériel génétique de la cellule. Il est formé par une succession de bases puriques (Adénine, Guanine) et pyrimidiques (Thymine et Cytosine) qui constituent le support du code génétique.

L'ADN chromosomique contient l'ensemble des informations nécessaires à la synthèse protéique et représente le patrimoine héréditaire de la cellule.

Les gènes bactériens peuvent être le siège de modifications dont les mutations qui sont des modifications spontanées ou induites par des agents mutagènes. Cette mutation est due à une addition, une délétion ou une substitution de bases ayant pour conséquence une erreur dans la lecture du code génétique et peut induire la résistance bactérienne aux antibiotiques par l'un des 3 mécanismes suivants: par perte de perméabilité de la paroi, par altération de la protéine cible ou par production d'enzyme inactivante.

Différents niveaux de résistance par mutation peuvent être décrits (1) ; on distingue :

- la résistance à un échelon avec l'exemple de *Escherichia coli* face à la Streptomycine . Cette résistance ne concerne qu'un seul locus

- la résistance à échelon multiple par contre concerne la mutation de plusieurs loci

Exemple : résistance à la Pénicilline. Dans ce cas, la bactérie n'accède à un niveau élevé de résistance qu'après contact répété avec l'antibiotique car on a une succession de résistance de bas niveau (figure 1).

La mutation engendre une résistance pour un ensemble d'antibiotiques de même famille . Ainsi la résistance d'un germe à deux antibiotiques différents peut s'expliquer par une mutation touchant deux loci indépendants portés par le même chromosome.

La mutation peut être transmise d'une bactérie à une autre, entraînant ainsi la dissémination de la résistance.

La résistance par mutation est cependant de fréquence faible (10-20 %) (49) et elle se caractérise en outre par sa spécificité (elle concerne le mécanisme biochimique de résistance uniquement) et son indépendance dans la mesure où elle n'est pas induite par la présence d'un antibiotique.

I.3.1.2) Résistance plasmidique

Le plasmide est constitué par de l'ADN extrachromosomique bicaténaire, hélicoïdale et circulaire. Il diffère de l'ADN chromosomique par sa taille plus petite (masse de 0,5 à 400 Megadalton contre 200 Megadalton pour le chromosome) et de sa répllication autonome régie par un contrôle strict.

Les plasmides codent pour plusieurs caractères dans la cellule mais les plasmides les plus étudiés sont ceux responsables de la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds. Ce sont les plasmides R qui peuvent être de bons outils en biologie moléculaire.

Les plasmides peuvent se transmettre soit par simple contact entre deux cellules (conjugaison) , soit par transduction par l'intermédiaire d'un vecteur: le bactériophage qui est un virus. Certains plasmides peuvent se perdre spontanément ceci dans un pour 1000 cas

Il existe deux types de plasmides (15) :

- les plasmides conjugatifs : autotransmissibles ; ils ont une masse moléculaire supérieure à 30 Megadalton(Md) .On les appelle aussi plasmides F ou facteurs sexuels ;

- les plasmides non conjugatifs : masse moléculaire comprise entre 0,5 à 50 Md. Ils codent pour les enzymes nécessaires à la conjugaison.

Les plasmides peuvent être classés par groupe d'incompatibilité. On définit l'incompatibilité entre deux plasmides comme étant leur incapacité

d'exister ensemble dans la même cellule (15). Une vingtaine de groupes d'incompatibilité a été décrite pour les facteurs F.

Les plasmides peuvent être détectés chez la bactérie par des méthodes génétiques (cure, transfert) ou par des techniques biochimiques (électrophorèse, ultracentrifugation en chlorure de césium, Bromure d'ethidium).

Les plasmides peuvent coder pour plusieurs antibiotiques de familles différentes.

Exemple : plasmide R55 codent pour la résistance à l'Ampicilline, à la Carbénicilline, à la Kanamycine, à la Gentamycine, à la Tobramycine, au Chloramphénicol, à la Sisomycine, et aux sulfamides (24).

La résistance plasmidique est très répandue 80 à 90 % des cas de résistance. Les antibiotiques pour les quels une résistance plasmidique n'a pas été détectée, sont rares et concernent : (15)

- la Rifamycine,
- les Polypeptides : Polymyxine B, Colistine,
- Furanes,
- les Quinolones : acide nalidixique, acide pipémidique, acide oxolinique,
- la Vancomycine.

La résistance plasmidique est transférable. Les plasmides des bacilles à Gram négatif se transmettent alors à de très nombreuses espèces expliquant la diffusion de l'infection à enterobactéries dans les milieux hospitaliers.

Il faut noter dans cette dissémination de la résistance la contribution des transposons qui sont des ADN interposés entre les gènes de résistance portés par les plasmides. Ils peuvent passer d'un plasmide à l'autre ou d'un site à l'autre du même plasmide ou bien encore se fixer sur un plasmide et le rendre résistant.

I.3.2) Mécanisme chimique

Le mécanisme chimique de la résistance bactérienne se manifeste à quatre niveaux :

- par imperméabilité de la paroi ;
- par altération des protéines cibles ;
- par production d'enzymes inactivant les antibiotiques ;
- par développement d'une voie métabolique se substituant à la voie métabolique inhibée par l'antibiotique.

I.3.2.1. Imperméabilité de la paroi

Pour comprendre ce mécanisme il convient de faire un rappel sur la constitution de la paroi bactérienne.

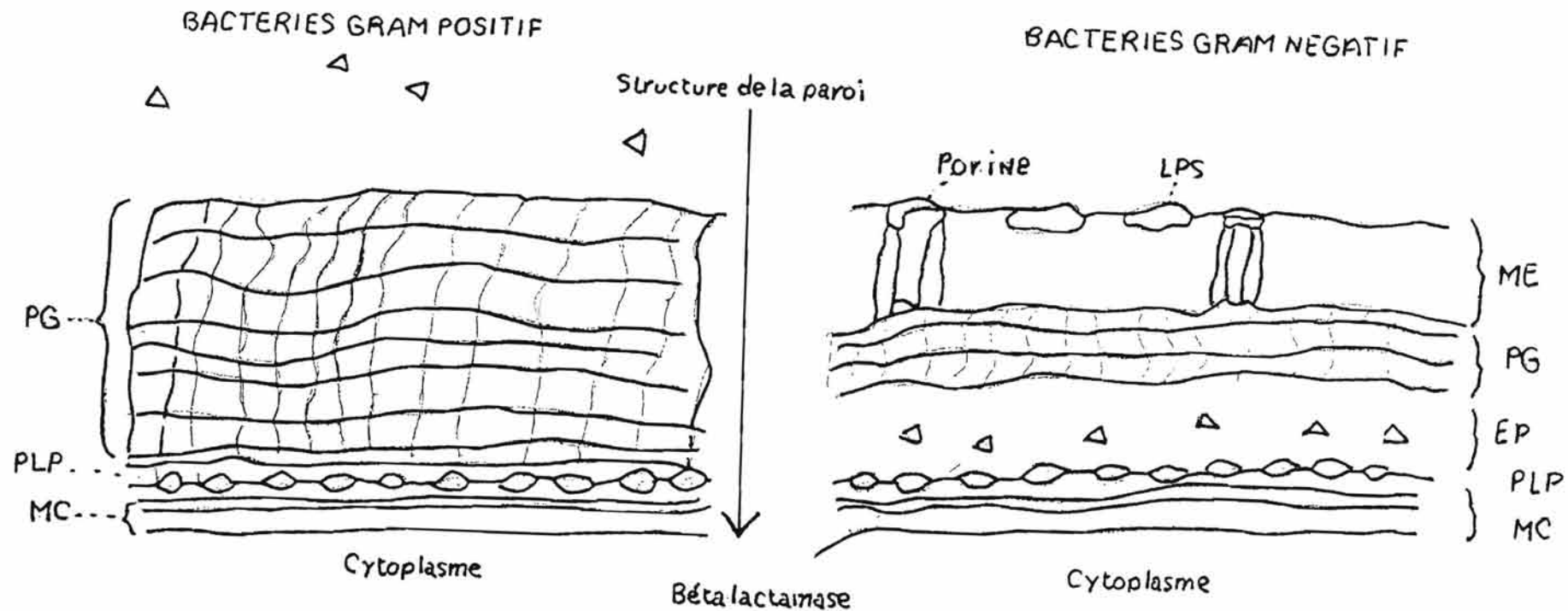
****La Paroi bactérienne (Figure 1)(9)***

La paroi bactérienne est une membrane rigide qui entoure la cellule bactérienne et qui joue un double rôle de protection et de maintien de la pression osmotique.

Sa composition chimique est complexe avec un élément essentiel:le peptidoglycane ou muréine.C'est un polyside formé de chaînes linéaires de N acétyl D glucosamine et de l'acide muramique reliées par des tétrapeptides. Cette structure est responsable de la rigidité. La synthèse du peptidoglycane nécessite l'intervention de trois enzymes.

La transglycosylase qui assure la formation des chaînes polysaccharidiques, la transpeptidase qui rattache ces chaînes polysaccharidiques et la carboxypeptidase qui joue un rôle dans la régulation de la synthèse.

La paroi joue un rôle essentiel dans la coloration de Gram, et elle permet de différencier les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif.



PG Peptidoglycane MC : Membrane cytoplasmique ... ME : Membrane externe
 EP : Espace périplasmique ... PLP : Protéines de liaison aux pénicillines

FIG1: STRUCTURE DE LA PAROI BACTERIENNE (9)

La structure de la paroi permet de comprendre le mécanisme d'action des antibiotiques de même que le mécanisme de résistance (Fig 1). Les conséquences de cette structure sont les suivantes :

1°) Chez les bactéries à Gram positif, la mureine a une structure réticulée, ce qui permet le passage facilité des produits. Au contraire, chez les bactéries à Gram négatif, la présence des deux membranes entraîne la traversée difficile de cette paroi et les molécules entrent dans la cellule en se servant des porines ;

2°) Les germes à Gram positif admettent ainsi deux mécanismes de résistance : modification des protéines cibles et sécrétion de Bétalactamase tandis que celles à Gram négatifs admettent en plus un 3ème mécanisme qui est la diminution ou l'absence de porines.

La résistance par imperméabilité de la paroi peut être due soit (51):

1°) à une absence d'électrons de transport avec l'exemple de la résistance de certaines souches de Streptocoques aux aminosides.

2°) à l'intervention de facteurs spécifiques à la paroi tels que la présence de capsule.

3°) à des facteurs propres aux médicaments à savoir :

- leur hydrophilie (facteur favorisant leur passage à travers les porines) ou leur hydrophobie

- la masse moléculaire

- leur structure et leur charge.

Par exemple : une souche avec une membrane riche en polysaccharides peut se révéler hautement résistante pour des produits hydrophobes.

4°) à la présence de porines à leur taille et à leur nombre. A noter l'existence de 5 types de porines (OmpC, OmpF, Lan S, PhoE et Porine K). La diminution de la synthèse de porines est le plus souvent due à une mutation chromosomique ;

5°) à une production d'enzyme se liant aux antibiotiques et diminuant ainsi leur transport.

Conséquence : les antibiotiques traversent plus ou moins bien la paroi en fonction de leur structure, ainsi (9) :

- les antibiotiques monoanioniques ont un passage fonction des radicaux qu'ils portent. Il s'agit de la Céfalotine, la Céfotaxime, la Céfoperazone, la Céftriaxone, la CéfAzoline, la Céfacétrile, la Céfuroxime, la Piperacilline, la Mezlocilline ;

- la présence d'une charge positive et d'une charge négative engendre une grande hydrophilie, donc une facilité de pénétration, c'est le cas de l'Ampicilline, le Céfator, la Céfalexine, l'Imipenem) ;

- les céphalosporines de 1ère génération ont une bonne perméabilité alors que celles de 3ème génération, à cause de l'adjonction de certains radicaux, traversent moins bien la barrière ; cela ne réduit pas leur efficacité du fait de leur relative résistance à l'hydrolyse enzymatique.

La résistance par imperméabilité n'affecte donc que les bactéries à Gram négatif. On peut citer l'exemple de *Pseudomonas aeruginosa* par ce mécanisme car un grand nombre de ses porines est clos (44).

Cette résistance peut être croisée pour les antibiotiques de même famille.

I.3.2.2) Résistance par modification des PLP

Les PLP (Protéines de liaison des Pénicillines) ou PBP (Protéins binding pencillin) sont situées sur la membrane cytoplasmique et servent de site d'action aux Bétalactamines. En effet, l'une des conditions d'action des Bétalactamines est leur fixation à une protéine cible.

Les PLP ont été décrites avec les travaux de B.SPRATT en 1975. Elles représentent les transpeptidases et carboxypeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane.

Leur comportement varie en fonction des substrats. Ainsi, lors de la synthèse de la peptidoglycane, le substrats naturel D-alanyl D-alanine forme avec l'enzyme une liaison instable alors que la liaison entre la PLP et les Bétalactamines est covalente et stable (66).

Cette liaison aboutit à l'action bactériostatique puis bactéricide de l'antibiotique.

La PBP est mise en évidence par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dodécyl sulfate de sodium et son poids moléculaire varie entre 40000 et 120000 daltons. Leur nombre et leur affinité aux bétalactamases est variable.

Tableau I : Résistance liée à des modifications des protéines de liaison à la Pénicilline chez les bactéries à Gram positif (66).

Modifications	Espèces
Diminution d'affinité pour les β lactamines	C. perfringens S. pyogenes
Augmentation de la quantité d'une PLP essentielle	E. faecalis E. faecium
Perte d'une PLP	E. faecium
Acquisition d'une nouvelle PLP	S. aureus

L'altération des PBP ainsi que des modifications au niveau du système autolytique constituent un mécanisme de résistance aux β lactamines. Ce mécanisme est gouverné par des gènes présents dans les plasmides et les transposons (51). Il peut être rencontré avec les antibiotiques comme les Tétracyclines, les Macrolides, les Lincosamides, les Sulfamides, le Triméthoprime, les Quinolones, les Rifampicines, les β lactamines et les Aminoglycosides.

La résistance par altération de la PBP est surtout rencontrée chez les bactéries à Gram positif qui sont dépourvues de membrane externe.

Exemple : la résistance des entérocoques aux céphalosporines de 3eme génération serait due à une altération des PBP.

Chez les bactéries à Gram négatif, le mécanisme de résistance est complexe et une résistance due exclusivement à l'altération des PBP est rare (on la décrit avec *Haemophilus* et *N. gonorrhoeae*).

I.3.2.3) Mécanisme enzymatique de la résistance bactérienne (2, 8, 51)

La détoxification enzymatique est un mécanisme de résistance très répandu qu'on peut mettre facilement en évidence. Presque toutes les familles d'antibiotiques peuvent être dégradées par des enzymes.

1) Les aminosides :

Une quarantaine d'enzymes dégradant ces antibiotiques existent dans le cytosol. Il s'agit des aminoglycosides modifying enzymes (AME) qui sont codées par les plasmides et les transposons. Elles sont classées en :

- phosphotransférases pour phosphoryler les groupements OH ;
 - acétyltransferases qui transfèrent un radical acétyl sur les groupements NH₂ en 6' ;
 - les nucléotidyl transférases qui fixent un radical adényl sur les groupements OH.
- Ces enzymes peuvent être mises en évidence par radioanalyse.

2) Pour le chloramphénicol, on note la présence de chloramphenicol acyltransferase (CAT) qui est inductible chez les espèces à Gram positif et constitutive chez celles à Gram négatif (Enterobactériaceae, *H. influenzae*) (fig 2).

Les CAT peuvent être détectées par des méthodes colorimétriques

3) Pour les lincosamides on distingue :

- les 3 lincosamide O- phosphotransférases ;
- les 3 lincosamide O-nucléotidyl transférase.

4) Les streptogramines sont classées en streptogramine A (SA) comprenant la Pristinamycine II et la Virginiamycine M et en Streptogramine B (SB) avec la Pristinamycine I et la Virginiamycine S. Ces antibiotiques peuvent être dégradés par :

- les Streptogramines A.O- acetyltransférases ;
- les Streptogramines B hydrolases.

5) Les Erythromycines B hydrolases peuvent être détruites par une erythromycine estérase.

6) Pour les β lactamines, plusieurs enzymes sont rencontrées à savoir :

- les pénicillinases et céphalosporinases qui constituent les β lactamases (Figure 3) ;
- les estérases qui coupent la chaîne latérale des céphalosporines ;
- les amidases qui hydrolysent aussi bien les Céphalosporines que les Penicillines pour libérer l'acide 7 aminocephalosporanique et l'acide 6 amino-penicillanique. On les rencontre chez les bactéries à Gram négatif seulement.

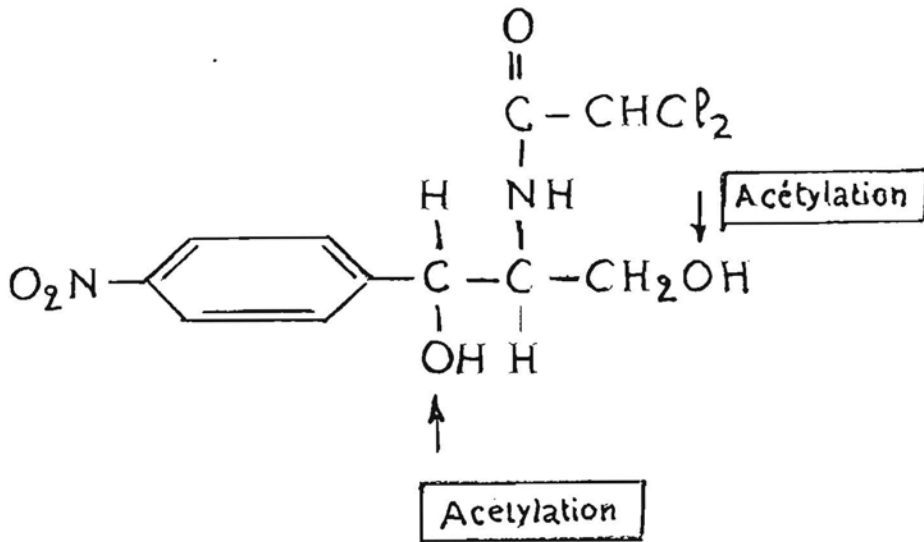


FIG 2: INACTIVATION ENZYMATIQUE DU CHLORAMPHENICOL

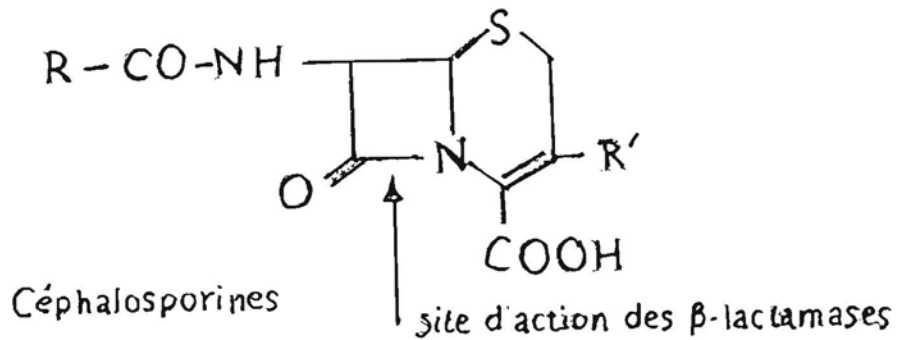
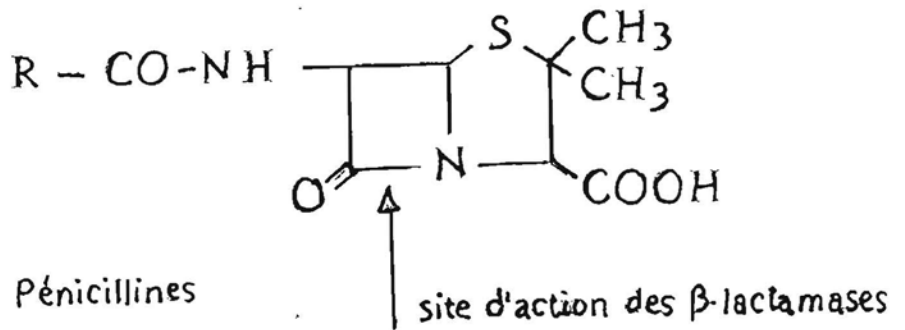


fig 3 LES BETA-LACTAMINES ET SITES D'ACTIONS DES BETA-LACTAMASES (1)

CHAPITRE 11 :
LES BETA-LACTAMASES

Pour mieux cerner l'action des β lactamases, il convient de faire un bref survol des β lactamines.

II.1) Rappel sur les β lactamines

Les β lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante du point de vue de leur nombre. Ils ont en commun les caractères suivants :

- leur structure : ils ont tous le noyau β lactame siège de l'activité antibactérienne avec 2 groupes : l'un dérivant de l'acide 6 aminopenicillanique (6APA) l'autre de l'acide 7 amino-cephalosporanique. Ces derniers sont substitués par des radicaux qui déterminent une relation structure-activité (Figure 4) ;

- leur mode d'action : les β lactamines agissent sur la synthèse du péptidoglycane de la paroi, ce qui a pour conséquence une lyse de la cellule bactérienne d'où l'action bactéricide. Ce mode d'action est lié à la structure de la paroi bactérienne ; ainsi les bactéries à Gram négatif ont une membrane hydrophobe qui constitue une barrière à la pénétration de β lactamines hydrophiles ;

- leur toxicité est relativement faible ;
- leur affinité pour les protéines cibles est variable ;
- elles sont dégradées par les β lactamases.

La structure des β lactamines permet de distinguer 6 groupes (11, 39).

1) Les Céphéms : Céphalosporines, Céfamycines, Oxacéphemes.

Les céphalosporines peuvent être classées de différentes manières (Wise, O' Callaghan) (11) mais nous retiendrons la classification en générations avec :

* la 1ère génération : Céfalotine, Céfaloridine, céfazoline, céfacétrile, Céfalexine

* la 2ème génération : céfuroxime, céfamandole, céfoxitime

* la 3ème génération : céfotaxime, céftazidine, céfoperazone, cefsulodine, latomoxef.

2) Les Pénèmes et carbapénèmes (Thianamycine)

3) Les Monobactams : aztréonam

4) Les Clavames : acide clavulanique

5) Les Pénams : Penicillines qui comprennent :

- PeniG (Benzyl peniciline, PeniG) ;
- Peni V (Phenoxy Methyl Peni) ;
- Peni M (Methicilline) ;
- Peni A (Ampicilline, Amoxiciline).

La nouvelle classification inclut dans les Pénams :

- * les ureidopenicillines (Mezlocilline, Azlocilline, Pipéracilline)
- * l'acide pénicillanique sulfone (Sulbactam)
- * Témocilline.

Tableau II : Propriétés différentielles des Céphalosporines (39)

Propriétés	1ère génération	2ème génération	3ème génération
stabilité céphalosporinase	-	++	+++
Activités intrinsèques	+	++	+++
Largeur de spectre	+	++	+++

- : activité nulle ou très faible
- + : activité faible
- ++ : bonne activité
- +++ : très bonne activité

II.2) Origine, structure et localisation des β lactamases

Les β lactamases sont des enzymes produites aussi bien par les germes à Gram positif que les germes à Gram négatif.

Dès 1940, Abraham et Chain ont démontré que les souches de E.Coli produisaient des enzymes responsables de la dégradation des pénicillines. Ces enzymes furent dénommées Pénicillinases. Par la suite d'autres Bétalactamines furent la cible d'attaque par des enzymes. Ainsi, en 1960, fut proposé le nom de Bétalactamase qui englobe les penicillinases et les cephalosporinases.

Concernant leur structure, nous noterons l'analogie entre Bétalactamase et PBP. En effet les deux ont un résidu serine qui va fixer les Bétalactamines, mais l'affinité est plus grande avec le site qu'avec l'enzyme.

Le poids moléculaire des Bétalactamases varie entre 12000 et 40000 (42)



* *Origine*

Suivant l'origine, on distingue deux types de β lactamases :

- Béta-lactamases constitutives qui sont synthétisées en l'absence d'autres antibiotiques avec l'exemple des bacilles à Gram négatif, des β lactamases chromosomiques de Klebsielles.

- β lactamases inductibles dont la biosynthèse se fait en présence d'un inducteur (Bétalactamine). Exemple : Pénicillinase des germes à Gram positif comme *S. aureus*, *Bacillus* et Cephalosporinases de bacilles à Gram négatif.

Les inducteurs agissent en chassant le represseur fixé sur l'opéron qui est situé sur le gène codant la synthèse de la β lactamase. Le represseur qui bloquait l'opéron étant écarté, la synthèse de la β lactamase se fait normalement.

Les molécules inductrices sont des bétalactamines, la cefoxitine étant la plus inductrice. Autres inducteurs : Imipenem, Carbénicilline, Céfuroxime, Céfotaxime (10).

La synthèse des β lactamases est de déterminisme génétique. Ce déterminisme peut être :

- Chromosomique : exemple céphalosporinase de *E. coli*, Pénicillinase des Klebsielles.

- Chimique : Pénicillinase des bacilles à Gram négatif (TEM,OXA). Les céphalosporinases plasmidiques sont rarement rencontrées. Il faut noter l'existence de β lactamases transposables.

* *Localisation*

Les β lactamase sont soit exocellulaires chez les germes à Gram positif soit périplasmiques chez ceux à Gram négatif. Dans ce dernier cas, ils sont en grande concentration entre les membranes intérieure et extérieure, ce qui fait que même en l'absence d'hydrolyse ils peuvent bloquer les β lactamines et les empêcher d'atteindre les PBP.

II.3) Mécanisme d'action des Bétalactamases

Les β lactamases agissent en hydrolysant les β lactamines au niveau des liaisons amides (voir Figure 5). Elles transforment ainsi les Pénicillines en acide Pénicilloïnique et les céphalosporines en acide céphalosporanique, ces acides étant inactifs.

Cette hydrolyse a lieu après fixation covalente de l'enzyme sur la bétalactamine au niveau du résidu sérine.

Les mécanismes d'action de ces enzymes permettent de distinguer 3 groupes :

- les β lactamases qui agissent sur les pénicillines exclusivement, sont les pénicillinases ;

- les β lactamases qui hydrolysent les céphalosporines sont les céphalosporinases ;

- les β lactamases qui se caractérisent par un large spectre.

Les phénotypes de résistances permettent de différencier :

- * Les Pénicillinases qui rendent les souches productrices résistantes à l'Ampicilline, la Carbénicilline alors qu'elles sont sensibles à l'Augmentin et sensibles ou intermédiaires à la céfazoline.

- * Les céphalosporinases rendent les souches résistantes à l'Ampicilline, la Céfazoline, l'Augmentin alors qu'elles sont sensibles à la Carbénicilline.

L'action des β lactamases dépend de plusieurs facteurs qui sont (10).

1) L'affinité de l'enzyme pour le substrat que caractérise la constante de Michaelis (K_m). Plus cette constante est faible, plus l'affinité est bonne.

2) La vitesse d'hydrolyse (V_m).

3) La quantité d'enzyme synthétisée ou effet inoculum.

4) La localisation de l'enzyme.

5) La diffusion de l'antibiotique à travers la membrane externe permet de définir la **crypticité** ou rapport entre l'activité de l'enzyme vis à vis du substrat entre les cellules à paroi cassée et les cellules entières

6) Le type d'enzyme (Tableau III).

Tableau III : Comparaison des taux d'hydrolyse (%) de certaines Cephalosporines vis à vis des β lactamases d'origine plasmidique (10) par rapport au taux d'hydrolyse de 100 % de la cefaloridine.

Enzyme	Ceftazidime	Céfo-taxime	Céfopéra-zone	Céfa-mandole	Latamoxef
TEM-1	< 1	< 1	70	75	<1
TEM-2	< 0,1	< 0,1	60	65	< 0,1
OXA - 2	< 0,1	< 0,1	200	250	< 0,1
SHV-1	0,1	0,1	150	180	0
PSE-1	< 0,1	<0,1	250	ND	< 0,1
PSE - 2	20	30	800	ND	10
PSE - 3	< 0,1	< 0,1	5	ND	< 0,1
PSE-4	< 0,1	< 0,1	250	ND	< 0,1

ND = non déterminé

L'activité hydrolytique des différentes enzymes est variable ainsi :

- les β lactamases de type TEM1, TEM-2, SHV-1 HMS-1 hydrolysent l'Ampicilline, la Carbénicilline et les céphalosporines de 1ère et 2ème générations ;

- les β lactamases de types OXA-1, OXA-2, OXA-3 hydrolysent l'isoxazolyl-Pénicilline, l'Ampicilline plus que la Céfaloridine ;

- les β lactamases PSE-1 PSE-2, PSE-4 hydrolysent plus l'Ampicilline et la Carbénicilline que la Céfaloridine.

II.4) Classification des β lactamases

La diversité des β lactamases rend leur classification difficile. Plusieurs schémas ont été proposés en tenant compte des facteurs suivants :

- la structure chimique ;
- le profil de substrat ;
- le déterminisme génétique ;
- le poids moléculaire ;
- les inhibiteurs :

nous citerons ici l'exemple :

- . des ions chlorures qui permettent d'inhiber les oxacillinases,
- . de la cloxacilline et de la carbénicilline qui inhibent les céphalosporinases
- . de l'acide clavulanique qui inhibe les Pénicillinases.

Dans le tableau IV nous avons la revue des différentes β lactamases qui sont classées selon les auteurs. Nous retiendrons ici la classification chimique, la classification de Richmond et Sykes ,et la classification de Payne et Amyes

II.4.1) Classification chimique (12)

Elle se base sur la structure chimique du site actif notamment sa séquence en amino-acides et permet de distinguer trois classes :

- classe A : comprend 4 enzymes caractérisées par un reste sérine en 70 et lysine en 73 ;
- classe C : 2 enzymes avec serine en 80 et lysine en 83 ;
- classe B : métalloenzyme.

Les nouvelles connaissances sur la structure des β lactamases permettent de donner la différence entre la séquence en amino-acides des différents types d'enzymes (voir tableau IV) (65)

Tableau IV : Séquence en amino-acides des différents types d'enzymes

Position	19	37	102	162	235	236	237	261
TEM	Leu	Gln	Glu	Arg	Ala	Gly	Glu	Thr
TEM2	Leu	Lys	Glu	Arg	Ala	Gly	Glu	Thr
TEM3	Leu	Lys	Lys	Arg	Ala	Ser	Glu	Thr
TEM4	Phe	Gln	Lys	Arg	Ala	Ser	Glu	Thr
TEM5	Leu	Gln	Gln	Ser	Thr	Gly	Lys	Thr

II.4.2) Classification de Richmond et SYKES (9)

Elle permet de distinguer 5 classes (Tableau V)

Tableau V : Classification de Richmond et SYKES (9)

Classe	Type	Inducti- bilité	Média- tion	INHIBE		Principaux germes
				CLOXA	PCMB	
Ia	Case	I	Chr	S	R	Entérobacter Citrobacter
Ib	Case	C	Chr	S	R	E.Coli
Ic	Case	I	Chr	S	R	P. vulgaris
Id	Case	I	Chr	S	R	P. aeruginosa
II	Pase	C	Chr	S	R	Klebsiella sp
III	Case	C	Pl	S	R	TEM1,TEM2
IV	Case	C	Chr	R	S	Klebsiella SP
V	Pase	C	Pl	R	S	OXA-1, OXA-2, OXA-3

Case = Céphalosporinase : S = sensible
 Pase : Pénicillinases : R : Résistant
 Chr = Chromosomique : C = constitutive
 Pl = Plasmidique : I = Inductible
 CLOXA = Cloxacilline
 PCMB = P.Chloromercuribenzoate

Il existe une correspondance entre les différentes appellations des β lactamases.

Tableau VI : Relation entre les classifications (9)

MATTHEW	Richmond et Sykes
Céphalosporinase	I
TEM-1	IIIa
TEM-2	IIIa
SHV-1	IVa
HMS-1	
OXA-1	Va
OXA-2	Vb
OXA-3	V
PSE-1	V
PSE-2	V
PSE-3	Ve
PSE-4	Vd

TEM = nom du malade chez qui la 1ère souche a été isolée
(TEMONIERA)

SHV : sulphydryl variable

HMS : Hedges, Mathew et smith

PSE : Pseudomonas specific enzyme.

II.4.3) Classification de Payne et Amyes (65)

Avec cette nouvelle classification, les β lactamases ont été spécifiées. Ainsi, en fonction des valeurs des CMI de la Ceftazidine et de la Céfotaxime on distingue 4 groupes (Tableau VII).

Tableau VII : Classification de Payne et Amyes (65)

Groupes			Dénomination	PI	CMI (mg/l)		Année
					CAZ	CTX	
1	Cefotaximases à bas niveau	TEM - E1	5,41	32	0,13	1987	
		TEM - E2	5,3	32	0,25	1982	
		TEM - E4	5,61	16	<1	ns	
		TEM - E7	5,41	16	0,06	ns	
		CAZ - 3	5,3	32	0,5	1987	
		CAZ - 10	5,6	4	0,03	1988	
2	Ceftazidinasés	TEM - E3	5,55	128	1	1987	
		TEM - 6	5,9	128	1	1986	
		TEM - 9	5,5	256	1	ns	
		TEM - 10	5,55	64	0,5	1988	
		CAZ - 7	6,3	256	4	1988	
		CAZ - hi	6,5	32	0,25	1988	
Dérivés des TEM	3a Cefotaximase à haut niveau	TEM - E3	6,3	16	8	1984	
		TEM - 4	5,9	16	8	1986	
		TEM - 5	5,55	64	16	1987	
		CAZ - 2	6,0	128	2	1987	
		CAZ - 6	6,5	512	8	1988	

Tableau VII : Classification de Payne et Amyes (65) (Suite)

					CMI (mg/l)		
Groupes			Dénomination	PI	CAZ	CTX	Année
Dérivés des SHV	3b	Cefotaximase	SHV - 2	7,7	4	4	1983
			SHV - 3	7,3	4	4	1985
			SHV - 4	7,8	128	32	1987
			SHV - 5	8,2	128	8	1987
Origine inconnue	3c	Cefotaximase à haut niveau	FEC - 1	8,2	13	200	ns
			DJP - 1	7,9	nd	nd	1988
	4	Cephalosporinase	FUR	7,5	2	1	1988
			MJ - 1	5,35	20,5	nd	ns
			MJ - 2	5,55	nd	nd	ns
			Sans nom 1	5,8	32	<0,5	1986
			Sans nom 2	5,25	>64	0,5	1988

nd : non déterminé

ns : non spécifié

PI : point isoélectrique

II.5) Les inhibiteurs des β lactamases

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour lutter contre l'action des β lactamases :

- on peut augmenter la résistance des antibiotiques à l'hydrolyse par les β lactamases ; cependant, il est difficile pour un antibiotique d'échapper à l'action de toutes les β lactamases ;

- on peut inhiber la synthèse des β lactamases.

L'idéal pour un antibiotique serait qu'il soit en mesure d'agir sur les transpeptidases et de ne pas se fixer sur les β lactamases ; mais vue l'analogie structurale entre les sites de ces 2 enzymes il est difficile d'atteindre ce but.

La recherche a été orientée vers la synthèse de molécules permettant d'inhiber les β lactamases ce qui laisse le champ libre aux β lactamines.

Il existe différents types d'inhibiteurs : les inhibiteurs chimiques et les inhibiteurs immunologiques et les β lactamines inhibitrices.

II.5.1) Différents inhibiteurs

2 types d'inhibiteurs sont décrits (8) :

II.5.1.1) Inhibiteurs substrats

Ces inhibiteurs ont une affinité avec l'enzyme supérieure à celle du substrat (β lactame). Elles forment avec la β lactamase un complexe stable qui bloque l'enzyme, l'empêchant d'attaquer la β lactamine.

Exemple d'inhibiteur substrat : Méhicilline, l'oxacilline.

II.5.1.2) Inhibiteurs suicides

Ces inhibiteurs comprennent des groupements capables d'être transformés par l'enzyme en groupement très réactif qui permettra une liaison covalente . L'enzyme catalyse ainsi sa propre destruction.

Exemple : Sulbactam, acide clavulanique

II.5.1.3) Classification

Il y a 4 classes de β lactamines inhibitrices qui comprennent :

- 1°) Les pénicillines sulfones avec : Sulbactam
- 2°) Les Carbapénèmes : Thiénamycine, Acide olivanique, Carpétimycines, PSS, Asparénomycines.
- 3°) Dérivés halogènes de l'acide Pénicillanique :
 - acide méthylène 6-pénicillanique ;
 - acide bromo 6- β pénicillanique.
- 4°) Acide clavulanique

En plus de ces 4 groupes on peut noter les céphalosporinases qui ne sont inhibés ni par le Sulbactam ni par l'acide clavulanique.

II.5.2) Mode d'action

L'inhibiteur agit en formant un complexe enzyme-substrat (E-I) avec l'enzyme.

Ce complexe peut être réversible ou irréversible

Réversible : $E + I \rightleftharpoons E - I$

Irréversible : $E + I \rightarrow E - I \rightarrow E - I$

La conséquence de cette action est un abaissement de la CMI.

Tableau VIII : CMI comparée entre l'Amoxicilline seule et l'association Amoxicilline + Acie clavulanique

Souche	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	
	Amoxicilline	Amox + Ac Clav
S. Aurens	197	0,12
E. Coli	500 μg	2,97

CMI comparée entre l'Amoxicilline seule et l'association Amoxicilline + acide clavulamique.

L'effet inhibiteur peut être quantifié par une mesure de la I/50 qui est la concentration donnant 50 % d'inhibition de la β lactamase en présence de β lactamine (38) (Voir tableau IX).

Tableau IX: Inhibition des β lactamases par l'acide clavulanique (38)

β Lactamases		Ac. Clavulanique	
Localisation du gène bla	Activité enzymatique prépondérante	Souche/plasmide producteur	Inhibition 1.50 μ g/ml
Plasmide	Pénicillinase III	TEM	+ 0,08Pe
	Céphalosporinase Pase Vd	OXA	+
	Case	PSE-4	+0,1Pe
Chromosomique	Pénicillinases II	K aerogenes	+0,03Pe
	IV	P. mirabilis C 889	+0,03Pe
		S. aureus Russelle	+0,06 pe
	Cephlosporinase Ia	E. coli JT410	0,56 Ce
		E. cloacae P99	0,10 Ce
	Id	P. aeruginosa	0,160 Ce
		B fragilis	+

Pe = en présence de Pénicillinase

Ce = en présence de Céphalosporinase

Pase = Pénicillinase

Case = Céphalosporinase.

II.5.3. Propriétés des inhibiteurs (45)

Un bon inhibiteur doit avoir les propriétés suivantes :

- 1°) bonne pénétration à travers la paroi bactérienne
- 2°) Grande affinité pour la β lactamase, ainsi le complexe enzyme-inhibiteur ne pourra pas être déplacé par la β lactamine associée.
- 3°) Rapidité de l'inhibition
- 4°) Passage de la bactérie d'un état de résistance à un état de sensibilité
- 5°) Concentration inhibitrice faible (de 0,1 à $2\mu\text{g/ml}$)
- 6°) une activité intrinsèque antibactérienne n'est pas nécessaire
- 7°) L'inhibiteur ne doit pas être inducteur
- 8°) Même cinétique que l'antibiotique associé de telle sorte que les deux molécules soient présentes en même temps dans chaque compartiment.
- 9°) Le coût de l'antibiothérapie par cette forme doit être faible.

II.5.4) Applications

Les inhibiteurs n'ayant pas une activité antibactérienne propre élevée (Tab X) , on les associe à d'autres antibiotiques qui sont efficaces mais attaquables par les β lactamases.

Différents types d'associations sont utilisés et on distingue (28) :

- les associations fixes où l'antibiotique et l'inhibiteur sont sous forme d'une même molécule d'où une concentration fixe.

Exemple : AUGMENTIN* (Amoxicilline + ac. Clavulanique)

TIMENTIN* (Ticarcilline + ac. Clavulanique)

UNASYN (Ampicilline + Sulbactam)

- les associations libres avec l'utilisation de l'indicateur et de l'antibiotique séparément (aminopenicilline, Ureidopenicilline, carboxypénicilline....).

L'emploi de l'inhibiteur est donc utile pour des souches productrices de β lactamase généralement de type pénicillinases plasmidiques comme : S. aureus Méthi-S, les anaerobies, Klebsiella avec ou sans TEM, E. coli avec TEM.

Tableau X : CMI des inhibiteurs sur différentes espèces (28)

	Acide Clavulanique	Sulbactam	YTR 830
Enterobactéries	≥ 16	≥ 32	> 64
P. aeruginosa	> 128	> 128	> 128
N. gonorrhoeae	5,6	≥ 1	2
S. aureus	16	≥ 32	32
Acinetobacter	4-16	1-16	4-32
Haemophilus	32	32	64

DEUXIEME PARTIE :
TRAVAIL PERSONNEL

CHAPITRE 1 :
CADRE DE L'ETUDE

Nous avons réalisé ce travail au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec (HALD).

I-1) HOPITAL A. LE DANTEC

L'Hôpital Central de Dakar ou hôpital "indigène" fut créé en 1912 à la limite de la Corniche Est de Dakar.

Cette infrastructure sanitaire est baptisée Hôpital Aristide Le Dantec à la mémoire du parrain qui fut le Directeur de l'Ecole de Médecine. Elle constitue depuis 1962 avec l'hôpital de Fann et le Centre National de Transfusion Sanguine, le CHU (Centre Hospitalier Universitaire) de Dakar.

L'hôpital comprend différents services à savoir les services de :

- Pédiatrie ;
- Médecine Interne ;
- Chirurgie Générale;
- ORL ;
- Dermatologie ;
- Cancérologie ;
- Cardiologie ;
- Radiologie ;
- Stomatologie ;
- Gynécologie-Obstétrique ;
- Ophtalmologie ;
- Urologie ;
- Pharmacie.

En plus des services Administratifs, divers laboratoires y sont installés. Il s'agit des laboratoires :

- de Biochimie ;
- de Biologie ;
- de Parasitologie ;
- de Cytologie et développement humain ;
- d'Anatomie-Pathologie ;
- de Bactériologie-Virologie.

I-2) Le laboratoire de Bactériologie-Virologie

Il constitue un repère dans différents domaines. Ses activités lui valent une audience internationale. Ainsi, on retient, parmi ses attributs, que le laboratoire constitue :

- 1) Un laboratoire de référence de l'OMS pour HIV2.
- 2) Un laboratoire d'Excellence pour le diagnostic des Maladies Sexuellement Transmissibles.

De ce fait, il est chargé du contrôle de qualité et de la supervision des laboratoires de la sous-région.

Le laboratoire est subdivisé en deux bâtiments. Celui destiné à la Bactériologie a subi des réfections et comprend :

- une réception et 2 salles de prélèvement ;
- une salle de stérilisation ;
- une salle de réunion ;

- un laboratoire proprement dit destiné aux analyses de routine ;
- divers bureaux annexés le plus souvent aux laboratoires où s'effectuent des recherches spéciales dont un destiné aux travaux de Thèses. Le deuxième bâtiment abrite la Virologie.

Le personnel comprend :

- des Médecins ;
- des Pharmaciens ;
- des Techniciens ;
- des Informaticiens et Statisticiens ;
- des Infirmières chargées du prélèvement ;
- personnel technique .

Les activités de routine du laboratoire comprennent les manipulations utilisant les techniques classiques de bactériologie, c'est-à-dire l'isolement, l'identification et la recherche de la sensibilité des souches. A ces activités s'ajoutent les recherches d'Agents Spéciaux tels : *Chlamydia trachomatis*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus ducreyi*.

Des sérologies tréponémiques, HIV et HBs pour l'hépatite virale B y sont effectuées.

CHAPITRE 11 :
MÉTHODOLOGIE

II.1) Souches bactériennes

Notre étude portera sur un ensemble de 151 souches bactériennes qui ont été choisies en fonction de leur profil de résistance lors de la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Ainsi, nous avons retenu les souches qui présentent une résistance à un ou plusieurs antibiotiques de la famille des β -lactamases .

Les souches testées comprennent des cocci et des bacilles avec la répartition suivante :

43 *Staphylococcus aureus*

- MetiR = 28

- Méthi S = 15

8 *Staphylococcus epidermidis*

37 Streptocoques dont 21 Enterocoques et 16 Streptocoques sp

19 Klebsielles avec 3 souches de *K. oxytoca* et 16 cas de

K. pneumoniae

17 Salmonelles constituées de 13 *S. typhi* et 3 *S. sp*

10 *Pseudomonas aeruginosa*

7 *Proteus mirabilis*

10 *Escherichia coli*

Concernant l'origine, les souches proviennent de différents produits pathologiques à savoir pus, LCR, hémoculture, coproculture, urines sphère ORL.

Ces souches ont été conservées dans un tube contenant du PBS + Glycérol et à -70°C .

Elles ont été isolées entre 1991 et 1993.

Tableau XI : Répartition du nombre de souches en fonction de l'origine du produit pathologique

Espèces	N	Pus	LCR	Hémo-culture	Copro-culture	Prélèvement urétral	Urines	Sphère ORL	Prélèvement vaginal	Prélèvement bucco-dentaire	Gorge
S. aureus	43	17	3	9	-	-	-	13	-	-	1
S. epidermidis	8	-	-	6	2	-	-	-	-	-	-
Streptocoque	37	22	-	-	-	-	1	-	6	5	3
Klebsielles	19	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
Salmonelles	17	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	10	-	-	-	-	1	9	-	-	-	-
Proteus mirabilis	7	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-
E. coli	10	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-
Total	151	39	3	32	2	1	17	42	6	5	4

II.2) Réactifs et matériels

II.2.) Pour l'identification des souches

Nous avons utilisé les schémas habituels pour l'identification des souches avec les milieux classiques (géloses ordinaires ou enrichis) des galeries d'identification comme les galeries API .

II.2.2) Pour la détection des Blactamases

a) Méthode acidimétrique

*Réactifs :

- Rouge de phénol
- Eau distillée
- Pénicilline G
- NaOH
- Tampon citrate (214,1g/l)

*Matériel :

- Tubes à hémolyse
- Micropipettes
- Flacon de 30 ml et de 150 ml

b) Méthode iodimétrique

*Réactifs

- Pénig sodique ou potassique
- Solution tampon phosphate pH 6,8
- Solution d'amidon
- Iode.

c) Méthode à la "Céfinase"

- Disque de nitrocéfine.
- Eau physiologique.

Matériel : Lames, Pipettes Pasteur

d) Méthode à l'Ampicilline

*Réactifs :

- solution d'ampicilline à 10 $\mu\text{g/ml}$
- solution de Bromocresol pourpre 0,2 %

Matériel : Lames, Pipettes Pasteurs

e) Méthode de recherche des β lactamases à large spectre

*Matériel :

- boîte à petri avec milieu MH
- Disque d'antibiotiques

II.3) Méthodes

Plusieurs méthodes ont été réalisées sur chaque souche. Les méthodes varient selon qu'on recherche les β lactamases de cocci à Gram positif ou des bacilles à Gram négatif.

Pour les cocci, nous avons utilisé les méthodes suivantes :

- Acidimétrie
- Iodimétrie
- Céfinase
- Ampicilline + BCP
- Céfazoline + BCP

Pour les Bacilles :

- Ampicilline
- Céfazoline
- Céfinase
- Synergie

II.3.1) Pour la détection des β lactamases à spectre étroit

1) La détection des β lactamases par l'Acidimétrie

* Le principe est basé sur la détection de l'acide libéré par attaque de la Pénicilline (notamment le noyau β lactame) par la β lactamase.

Cet acide fait virer l'indicateur coloré, ici le rouge de phénol (62).

* Pour la technique (55) :

- ajouter 2 ml de solution de rouge de phénol à 0,5 % à 16,6 ml d'eau distillée.

- mettre le mélange dans une ampoule contenant $20 \cdot 10^6$ unités de Pénicilline G injectable contenant du tampon citrate

- verser la solution dans un tube à essai et ajouter NaOH. 1M goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'un pH de 8,5 environ. Le virage se manifeste par la coloration violette. On peut mesurer au PH mètre.

La solution peut être conservée à -60°C jusqu'au moment de l'emploi (ne pas l'utiliser si elle vire au jaune).

- placer 0,05 à 0,1 ml de cette solution dans une ampoule de microdilution ou dans un tube à hémolyse.

- préparer une suspension dense de colonies à partir d'une culture pure de germes.

Lecture : si la souche produit une β lactamase, la solution vire au jaune au bout de 15 mn (maximum 3 à 60 mn) (Voir figure 5).

2) L'Iodimétrie

Cette méthode a été décrite par Perret en 1954. Le principe repose sur la combinaison de l'acide provenant de l'attaque de la Peni G avec l'iode d'un complexe lugol-amidon.

En présence de β lactamase, l'amidon reste libre donc incolore. En l'absence d'attaque de la Pénicilline, l'amidon se combine avec l'iode et donne une coloration bleue (62) (Figure 6).

Technique (55) :

- dissoudre la Peni G dans du tampon phosphate 0,1M (pH6,0) pour avoir une concentration de 6,00 μ g/ml ;

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

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

- déposer 0,1 ml de PeniG dans un puits d'une plaque de microtitrage ou dans des tubes à hémolyse et ajouter 2 gouttes de solution d'amidon et 1 goutte de lugol ;

- mélanger cette solution à une suspension de germes.

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



FIG 5: ACIDIMETRIE

T = temoin positif

Tubes N°: c4 , c5 , a3, a6, a7, c10 positifs

Tubes N°: a9,1, 2 négatifs



FIG 7: IMAGE DE SYNERGIE

Entre les disques · - AMC et CFP
 - AMC et CAZ
 - AMC et CRO

3°) Méthode à la Céfinase

C'est une méthode chromogénique.

Le principe repose sur le changement de couleur de certaines céphalosporines en solution aqueuse lorsque les liaisons β lactam sont rompues par l'action des β lactamases.

On peut utiliser la nitrocéfine ou bien la Pyridine 2 Azo p. aniline dimethyl Céphalosporine (62) (Figure 7).

Technique :

On utilise des disques imprégnés à la Nitrocéfine + BCP. Ces disques sont imbibés d'eau physiologique puis on y dépose une anse de colonie grâce à une pipette Pasteur.

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

NB : Méthode réalisable en tube.

C'est une méthode très sensible et elle peut même détecter d'autres enzymes qui n'interviennent pas dans la résistance bactérienne. Pour contourner ces inconvénients, on utilise en même temps les disques imprégnés d'Ampicilline ou de céfazoline. Les souches positives en "Ampi" produisent donc suffisamment de β lactamases pour être classées de haut niveau alors que celles qui ne sont positives qu'avec la Céfinase sont de bas niveau (59).

4) Méthode à l'Ampicilline

C'est une méthode similaire à l'Acidimétrie mais ici l'antibiotique testé est l'Ampicilline et l'indicateur coloré le bromo-cresol pourpre.

On utilise des disques sur lesquels on dépose 20 μ l d'une solution obtenue par mélange d'une solution d'Ampicilline à 10 μ g/ml et de BPC à 0,2 % dans l'eau distillée.

Si une souche produit une β lactamase, le disque vire du violet au jaune-orange.

Interprétation :

Le BCP est un indicateur pourpre en milieu basique et jaune en milieu acide. La solution de BCP est amenée à un pH = 6,7 en y ajoutant quelques gouttes de NaOH (soude).

La solution de travail contenant de l'Ampicilline les souches qui produisent une β lactamase en libérant l'acide pénicilloïque vont entraîner une acidification du milieu et donc une coloration jaune du disque.

Nous avons employé la même méthode en remplaçant l'Ampicilline par de la Céfazoline à 30 μ g/ml. Cette méthode permet de différencier les Céphalosporinases qui attaquent la Céfazoline des pénicillinases qui attaquent à leur tour l'Ampicilline (62).

II.3.2) Recherche de β lactamases à large spectre

Cette recherche est effectuée sur les bacilles à Gram négatif. Elle se fait en observant l'image de synergie obtenue entre une Céphalosporine de 3e génération et un inhibiteur de β lactamase.

Pour la réalisation, la technique utilisée est apparentée à un antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu Mueller-Hinton;

Après avoirensemencé la gelose en nappe grâce à un bouillon de la culture de germes, dans de l'eau physiologique, on aspire l'excès et on dépose le disque de Céphalosporines.

Si la souche produit une β lactamase à large spectre, on observe une image de synergie entre 2 disques au moins (Figure 8).

Les céphalosporines que nous avons testées sont :

- la Céfotazidime (CAZ) ;
- la Ceftriaxone (CRO) ;
- la Céfopérazone (CFP) ;
- la Céfazoline (2ème génération).

Comme inhibiteurs chimiques ,nous avons utilisé le Sulbactam et l'Augmentin^R.

Comme antibiotique inhibiteur, l'Azthréonam (Monobactam), l'Imipénem.

II.3.3) Critères de classification des β lactamases à partir des tests

Les tests que nous avons choisis peuvent être classés en trois groupes :

1) L'Acidimétrie, l'Iodimétrie, l'Ampicilline pour la détection des pénicillinases.

Une souche sera classée pénicillinase à haut niveau si elle hydrolyse la Penicilline^G et l'Ampicilline c'est-à-dire si l'Acidimétrie et/ou l'Iodimétrie sont positives en plus du test à l'Ampicilline.

Par contre, la souche sera considérée comme Pénicillinase à bas niveau si l'un ou les deux premiers tests sont positifs alors que le test à l'Ampicilline est négatif.

2) La Céfinaise et la Céfazoline permettent de classer les souches en céphalosporinase à haut niveau et à bas niveau. La céphalosporinase est de haut niveau si les deux tests sont positifs. Elle est de bas niveau si la souche n'hydrolyse pas la Céfazoline, c'est-à-dire que le test à la Céfazoline donne des résultats négatifs alors que la Céfinaise est positive (62).

Tableau XII : Classification des β lactamases selon le substrat

		Pénicilline	Ampicilline	Nitrocéfine	Céfazoline
Pénicillinase	HN	+	+	±	±
	BN	+	-	±	±
Céphalosporinase	HN	±	±	+	+
	BN	±	±	±	-

CHAPITRE VII :
RESULTATS

III.1) Caractéristiques des souches

III.1.1) Cocci

Tableau XIII : Profil de résistance des Cocci aux β lactamines

Souches	Pourcentage de résistance (%)			
	CRO	PEN	CTX	AMOX + Ac clavulanique
S. aureus n = 28 Méthi R	10,72	92,86	10,71	3,57
S. aureus n = 15 Méthi S	60	57,14	26,67	46,67
S. epidermidis n = 8	27,50	62,25	25	22,50
Streptocoques n = 16	75	12,50	37,50	6,25
Enterocoques n = 21	85,71	84,76	76,19	4,76

D'une manière générale, les cocci ont une résistance faible vis-à-vis de l'association Amoxicilline + Acide clavulanique (Augmentin^R), la Céftriaxone et la Cefotaxime à l'exception des Enterocoques dont 85,71% des souches sont résistantes à la Céftriaxone et 76,19 % à la Cefotaxime.

Par contre, la Pencilline G a une activité faible sur les cocci avec 92,86% des souches de S. aureus Méthi-résistantes à cet antibiotique

III.1-2) Les bacilles

Tableau XIV: Pourcentage de souches résistantes aux antibiotiques pour les bacilles à Gram négatif

Souches	Nbre de souches	CRO	CUR	AUG	CTX	CAZ
Klebsiella	19	10,53	0	52,63	5,26	5,26
Salmonella	17	0	29,41	82,35	5,88	5,88
P. aeruginosa	10	10	0	100	20	0
P. mirabilis	7	28,57	42,86	100	28,57	46,86
E. coli	10	20	60	100	20	20,8

L'association Amoxicilline + acide clavulanique (AUG) est inactive sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*.

De même 82,35 % des souches de *Salmonella* et 52,63 % des souches de *Klebsiella* sont résistantes à cet antibiotique.

60 % des souches de *Escherichia coli* sont résistantes à la Céfuroxime.

III.2) Résultats globaux

III.2.1) Fréquence des β lactamases

III.2.1.1) β lactamase à spectre étroit

Tableau XV: Répartition globale des β lactamases

	β lactamase		Pénicilline		Céphalosporinase		P + C	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Cocci n = 88	53	71,59	16	25,39	9	14,28	38	60,32
Bacilles n = 63	55	87,30	15	27,27	26	47,27	14	25,45
Total n = 151	118	78,14	31	26,27	35	29,66	52	44,07

P : Pénicillinase

C : Céphalosporinase

Dans 78,14 % des souches de notre étude, nous avons détecté des bêta-lactamases ce qui nous fait supposer une prédominance de ce mécanisme dans la résistance bactérienne aux β lactamines.

Il convient de rappeler cependant que les différentes méthodes que nous avons utilisées nous ont permis de détecter des β lactamases plasmidiques (et non chromosomiques).

Les β lactamases ont été plus fréquemment retrouvées chez les bacilles (87,30%) que chez les cocci (71,59%) avec la répartition suivante :

- 26,27 % des souches sécrétant une pénicillinase ;
- 29,66 % des souches sécrétant une céphalosporinase.

Il ressort de ces résultats que 52 souches soit 44,07 % donnent des réactions positives avec les substrats pour la Pénicillinases et la Céphalosporinases.

Dans 21,85 % des souches, nous n'avons pas détecté des β lactamases ce qui nous fait avancer les explications suivantes : soit ces souches secrètent d'autres enzymes que les β lactamases plasmidiques, soit leur résistance aux antibiotiques admet d'autres mécanismes.

Nous avons noté une faible prédominance des Pénicillinases chez les bacilles (27,27 %) et des Céphalosporinases chez les Cocci (25,30 %).

La double réactivité des souches aux substrats de la Pénicillinase et à celle de la Céphalosporinase est prédominamment observée chez les cocci (60,52%)

III.2.1.2) β lactamase à spectre élargi

Au total, il ressort de nos résultats que le nombre de souches chez lesquelles nous avons observé une image de synergie par la méthode utilisée représente 15,09 % du nombre total de souches testées (soit 54).

La répartition est notée sur le tableau XVI.

Tableau XVI : Répartition des β lactamases à large spectre

Espèce	Fréquence	Base à large spectre	%
Klebsielle	19	1	5,26
Salmonella	17	5	29,41
E. coli	10	2	20
Proteus	7	1	14,28
Total	53	9	15,09

- Chez les Klebsielles, nous avons observé une synergie entre l'Acide Clavulanique + Amoxicilline et la Céfotaxime. La Klebsielle en question est une *Klebsiella oxytoca*.

- Chez les Salmonelles, 5 BLSE sont détectées. Cependant, ici, nous avons observé l'image de synergie entre l'Amoxicilline + l'Acide Clavulanique et la Céfazoline qui est une Céphalosporinase de 2^e génération.

- Pour *Escherichia coli*, deux images de synergies sont observées entre l'Amoxicilline + ac. clavulanique et la Ceftriaxone et la Céfotaxime.

- Une souche de *Proteus mirabilis* présente une synergie avec le Sulbactam et Céfotaxime.

Tableau XVII : Nombre des résistances déterminées en antibiogramme standard chez les souches produisant une β lactamase à large spectre

Espèces	CFP	CRO	CZ	AUG	CTX	CAZ	CUR
Klebsielle (n = 1)	0	0	0	1	0	0	0
Salmonelles (n = 5)	2	1	1	5	1	1	5
E. coli (n = 2)	0	0	0	0	0	0	2
Proteus (n = 1)	0	0	0	1	0	0	0
Total (n = 9)	2	1	1	7	1	1	7

III.2.2) Positivité des tests

Tableau XVIII : Positivité des tests

Pourcentage de positivité des tests	Cocci n = 88	Bacilles n = 63	Total n = 151
Acidimétrie	50,79		
Iodimétrie	49,21		
Ampicilline	52,38	34,54	44,09
Céfinase	69,84	92,73	80,51
Céfazoline	61,90	50,91	56,78

Il ressort de ce tableau que l'Acidimétrie, l'Iodimétrie et l'Ampicilline donnent des résultats comparables chez les Cocci soit respectivement 50,79; 49,21 et 52,38 % de positivité.

Avec la Céfinase la positivité est plus élevée chez les bacilles (92,73 %) que chez les Cocci (69,84 %).

La différence dans la positivité des Cocci et des bacilles est moins marquée lorsque nous considérons les résultats de la Céfazoline (Voir figure 9).

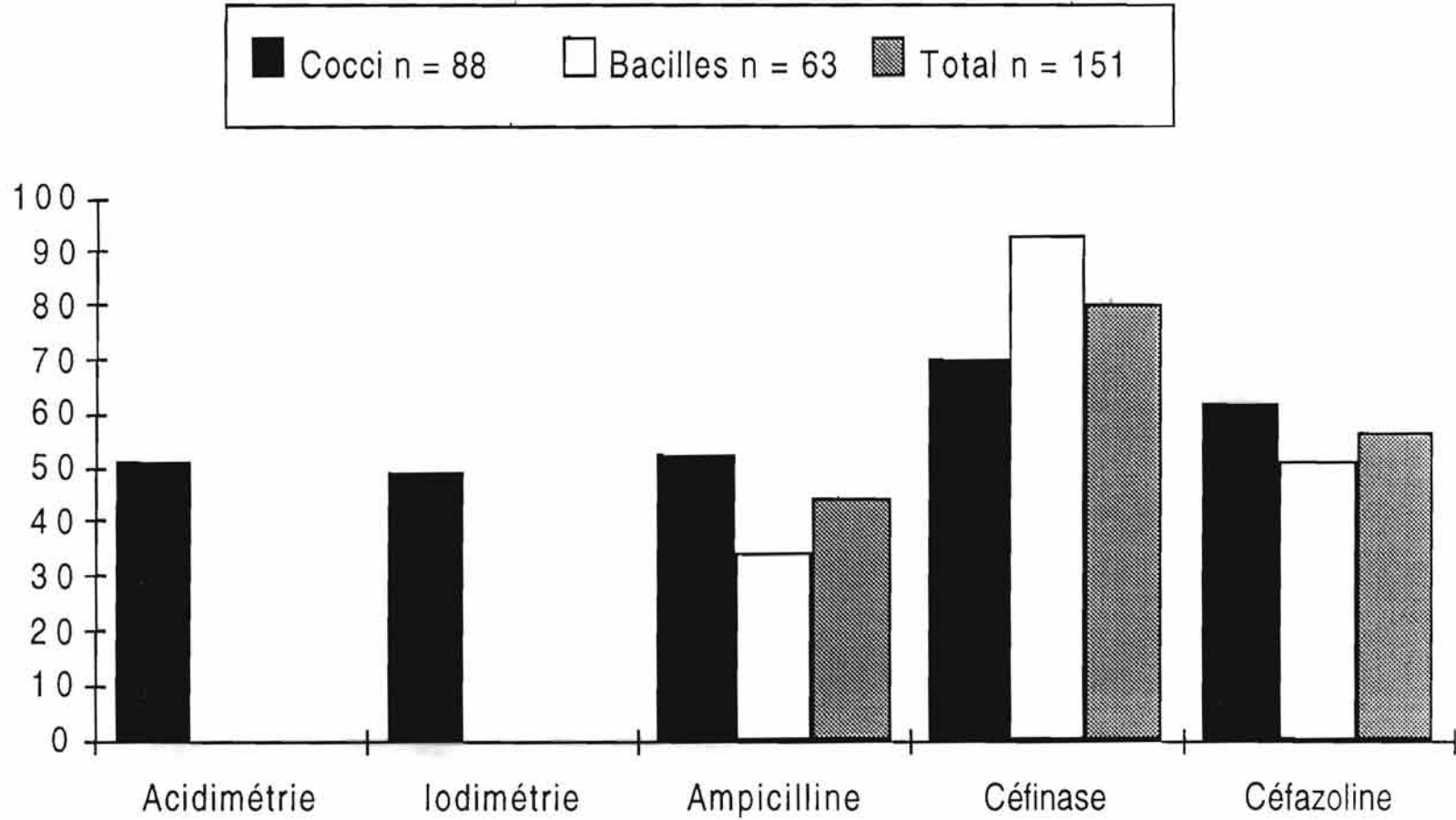


Fig. : 9 Positivité des tests chez les cocci et les bacilles

III.3) Répartition des β lactamases en fonction des souches

* Chez les Cocci

**Tableau XIX : Pourcentage des β lactamases en fonction
des espèces chez les Cocci**

Souches	Nombre de β lactamases	Pénicillinase	Céphalosporinase	P +
S. aureus n = 28 Méthi R	21	9,52	4,76	85,71
S. aureus n = 15 Méthi S.	14	7,14	7,14	85,71
S. epidermidis n = 15	4	50	0	50
Streptocoques n = 16	12	41,66	33,33	25
Enterocoques n = 21	12	50	25	25
Total n = 88	63	25,39	14,28	60,32

P : Pénicillinase

C : Céphalosporinase

Le plus grand pourcentage de β lactamase (plasmidique) a été détecté chez *Staphylococcus aureus* méthi-sensibles (93,33%)

Les souches de *Staphylococcus aureus* méthi-sensible ont présenté 14 soit 93,33 % de β lactamases, suivies des Streptocoques et des *S.aureus* Méthi- (75 % chacune) puis des Entérocoques (57,14 %) et enfin des *Staphylococcus epidermidis* (50 %).

Nous noterons les pourcentages élevés de souches donnant des réactions positives croisées dans la détection des deux types de β lactamases notamment chez les Staphylocoques.

* Chez les bacilles

Tableau XX : Pourcentage des β lactamases en fonction des espèces pour les bacilles

Fréquence	β lactamase	Pénicillinase	Céphalosporinase	P + C
Klebsielles n = 19	19 100	10,53	63,16	26,31
Salmonelle n = 17	12 70,59	0	100	0
P. aeruginosa n = 10	7 70	28,57	57,14	14,28
P. mirabilis n = 7	7 100	14,28	42,86	42,86
E. coli n = 10	10 100	0	50	50
Total n = 151	55 78,14	9,09	65,45	25,45

P : Pénicillinase

C : Céphalosporinase

Nous avons surtout détecté des Céphalosporinases avec une prévalence élevée chez les Salmonelles (100 %), Pseudomonas aeruginosa (57,14%), E. coli (50 %) et Proteus mirabilis (42,86 %).

Quant aux Klebsielles, elles ont sécrété moins de Pénicillinase (10,53 %) que de Céphalosporinase (63,16 %).

La combinaison pénicillinase + céphalosporinase a été plus fréquemment rencontrée chez E. coli (50 %).

III.4) Fréquence des β lactamases et sensibilité aux β lactamines

III.4.1) Chez les souches sécrétant une Pénicillinase

Tableau XXI: Répartition des souches résistantes en fonction de la Pénicillinase sécrétée

β lactamase	Pourcentage de résistance					
	CRO	CTX	CAZ	CUR	PEN	AUG
Pénicillinase à HN n = 54	20,37	20,37	10,52	10,52	64,81	37,04
Pénicillinase à BN n = 29	41,38	41,38	27,59	10,34	44,83	17,24
Pase négatif n = 68	15,29	27,94	20,59	45,59	16,76	24,41

Nous avons séparé ici le cas des souches sécrétant une pénicillinase à haut niveau de celui des souches produisant une pénicillinase à bas niveau.

Nous constatons à partir de ces résultats que :

- les germes sécrétant des pénicillinases à haut niveau ont une résistance élevée à la pénicilline G (64,81 %) et à l'association Amox + Acide Clavulanique (37,04 %).

Les Céphalosporines montrent une meilleure activité sur ces germes avec seulement 20,37 % de résistance à la Céftriaxone et la Céfotaxime ; 10,52 % de résistance à la Ceftazidime et à la Céfuroxime.

- chez les souches où nous avons détecté des Pénicillinases à bas niveau, la sensibilité à la Pénicilline G est meilleure que celle des germes à haut niveau (50%).

Il en est de même avec l'Augmentin^R (Ac clavulanique + Amoxicilline).

Par contre nous constatons la résistance vis-à-vis des Céphalosporines est plus élevée chez les souches sécrétant une Pénicillinase à bas niveau.

L'interprétation de ces résultats doit tenir compte de la sécrétion probable par certaines souches des deux types de β lactamase.

Chez 68 souches, soit 45,03 %, nous n'avons pas détecté de β lactamases ; néanmoins nous avons noté en plus une résistance dans 24,41% des souches à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique et dans 16,76 % à la Pénicilline G.

**III.4.2) Chez les souches sécrétant
une Céphalosporinase**

**Tableau XXII : Répartition des souches résistantes en fonction
de la Céphalosporinase sécrétée**

β lactamase	Pourcentage de résistance					
	CRO	CTX	CAZ	CUR	PEN	AUG
Céphalosporinase à HN n = 35	40	42,86	34,28	68,57	37,14	60
Céphalosporinase à BN n = 29	25	19,23	26,93	19,23	44,23	55,77
Céphalosporinase négatif n = 64	25	20,31	0	39,06	11,19	2,68

* Les souches sécrétant des Céphalosporinases à haut niveau ont présenté une résistance élevée à la Céfuroxime (68,57 %).

La Céftriaxone et la Céfotaxime ont une action comparable sur ces souches (respectivement 40 et 42,86 % de résistance).

Quant aux Pénicillines, la Pénicilline G a une activité assez importante sur ces souches avec cependant 37,14 % de résistance alors qu'avec l'association Ac-clavulanique + Amoxicilline, la prévalence des germes résistants est de 60 % chez ces souches.

* Chez les souches sécrétant une Céphalosporinase à bas niveau, nous avons noté une résistance à l'association Acide-clavulanique + Amoxicilline (55,77 %) à la Pénicilline G (44,23 %), à la Céftriaxone (25 %) , à la Cefotaxime et à la Céfuroxime (19,23 %).

Dans l'ensemble, ces différents antibiotiques testés ont une activité plus élevée chez les souches produisant une Céphalosporinase à bas niveau à l'exception de la Pénicilline.

Il ressort de ces constatations que les germes sécrètent une Céphalosporinase en plus de leur résistance aux Céphalosporines, résistent

aux Pénicillines comme la Pénicilline G et l'association Acide-clavulanique + Amoxicilline. Ce phénomène peut être attribué à une sécrétion par ces souches à la fois de deux types de β lactamases ou au fait que les Céphalosporinases ont un champs d'action qui s'élargit aux Pénicillines.

Ces souches sont dans leur totalité sensibles à la Céfotaxime, ce qui nous fait supposer que la sécrétion de Céphalosporinase soit le seul facteur incriminé dans la résistance à cette Céphalosporine de 3e génération.

Les souches Céphalosporinases négatives restent résistantes à la Céfuroxime dans 39,06 %, à la Céftriaxone dans 25 % et à la Céfotaxime : 20,31 % de résistance.

III.5) Positivé des tests

III.5.1) En fonction des espèces

**Tableau XXIII : Fréquence des tests positifs
pour chaque espèce**

	β lase	Acidimétrie	Iodimétrie	Ampicilline	Céfinase	Céfazoli
S. aureus Méthi R n = 28	21	57,14	80,95	61,90	90,48	57,14
S. aureus Méthi S n = 15	14	64,28	85,71	35,71	92,86	85,71
S. epidermidis n = 8	4	75	50	75	50	75
Streptocoques n = 16	12	33,33	31,12	8,33	8,33	16,66
Enterocoques n = 21	12	33,33	33,33	41,66	33,33	50
Klebsielle n = 19	19			31,58	57,89	15,79
Salmonelle n = 17	12			0	50	23,53
P. aeruginosa n = 10	10			30	40	40
Proteus n = 7	7			100	100	57,14
E. coli n = 10	10			40	60	30

- Avec les S. aureus Méthi Résistantes, la Céfinase donne plus de positifs (90,48 %) suivi de l'Iodimétrie. Le test à l'Ampicilline donne des valeurs comparables avec celui de l'Acidimétrie et de la Céfazoline.

- Chez les S. aureus Méthi sensibles tous les tests donnent de bons résultats à l'exception du test à l'Ampicilline avec lequel seulement 35,71 % des souches sont positives.

- La Céfinaise, l'Acidimétrie et la Céfazoline sont plus sensibles chez les *S. epidermidis* (75 % de positivité) que les tests à l'Ampicilline et l'Iodimétrie.

L'Acidimétrie a la même sensibilité chez les Enterocoques et les autres Streptocoques (33,33 %) . La positivité du test à la Céfazoline est légèrement plus faible chez les Streptocoques (50 %) que chez les Enterocoques (41,66 %).

Les résultats des autres tests sont meilleurs chez les Streptocoques.

- Chez les bacilles à Gram négatif

Avec les salmonelles, aucune souche n'est positive par le test à l'Ampicilline. Pour *P. aeruginosa*, la Céfazoline et la Céfinaise ont la même sensibilité vu le nombre de souches positifs.

100 % des souches sont positives par le test à l'Ampicilline et la Céfinaise chez *Proteus mirabilis*, alors que la Céfazoline n'est pas positive dans 57,14 % dans cette espèce.

Chez les *E. coli*, nous avons retrouvé 60 % de positivité par la Céfinaise, 40 % par le test à l'Ampicilline et 30 % avec le test à la Céfazoline.

Chez les Klebsielles, la fréquence de détection des β lactamases est plus élevée lorsque nous utilisons la Céfinaise (57,89 %) (Voir Figures 10 et 11).

SE = Staphylococcus epidermidis
 MR = S. aureus Methi-R
 MS = S. aureus Methi-S
 ST = Steptocoque

% de souches positifs

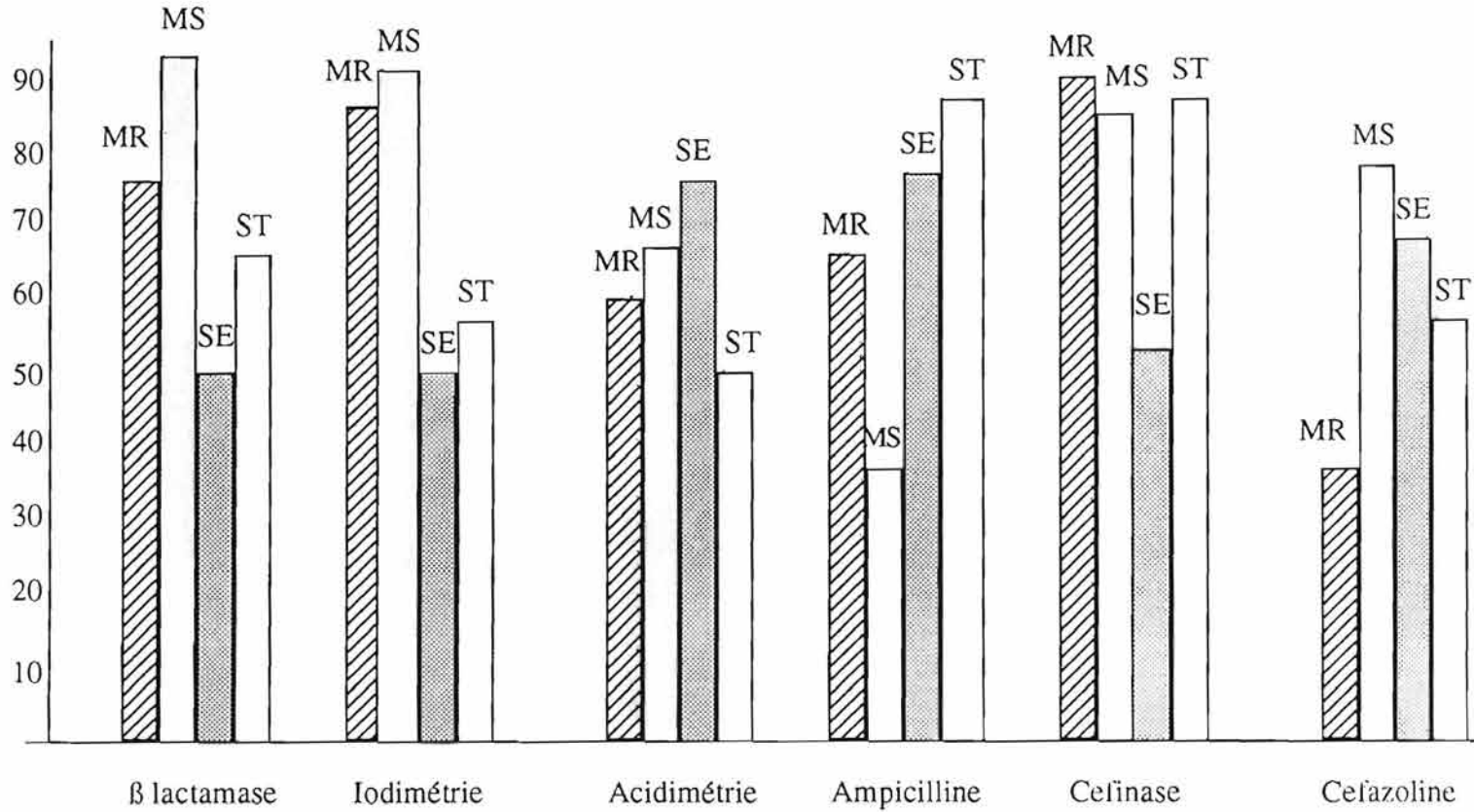


Fig. 10 : positivité des tests en fonction des espèces chez les cocci

PM = Proteus mirabilis
PA = Pseudo aeruginosa
K = Klebsielles
S = Salmonelles
EC = Escherichia coli

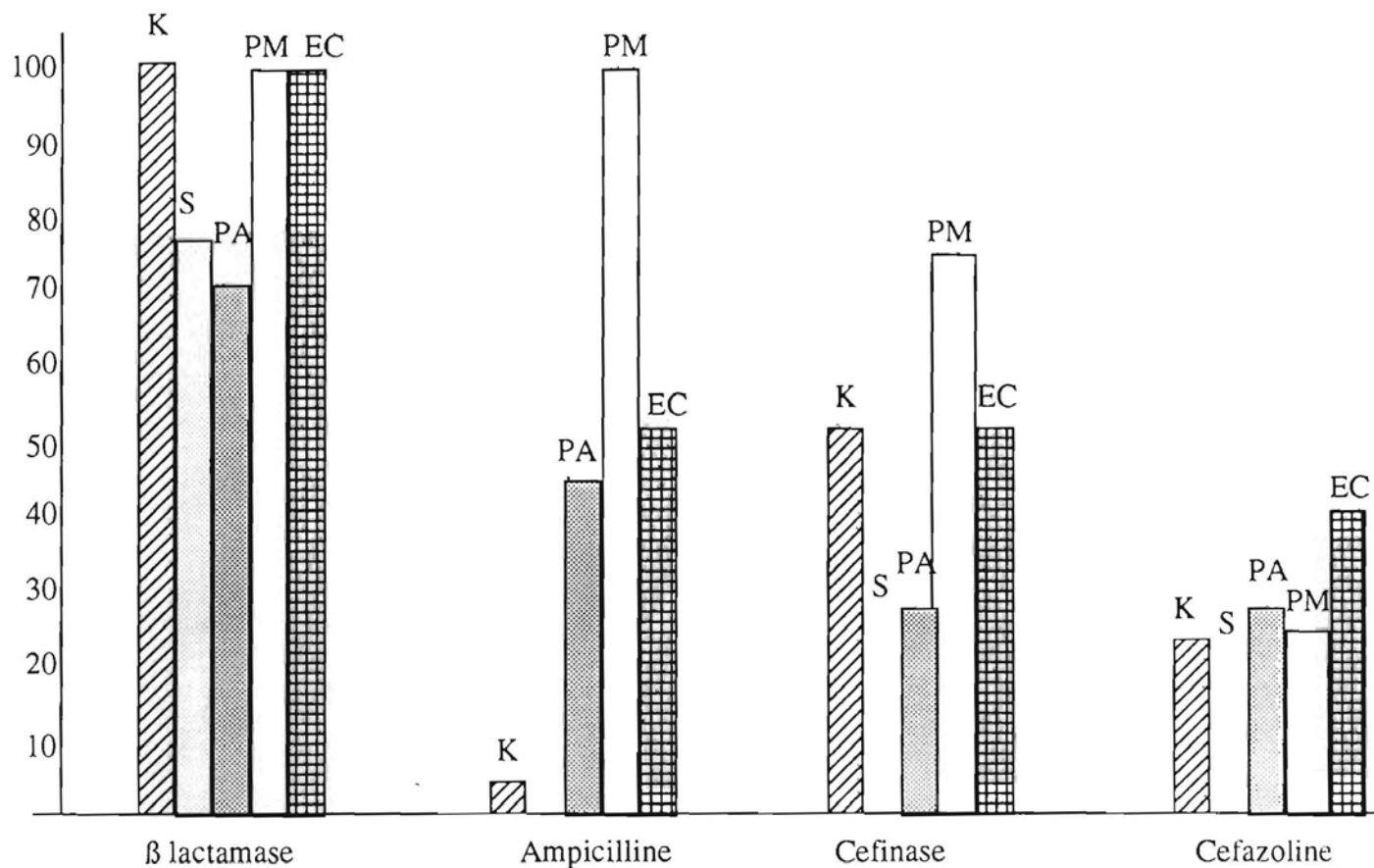


Fig. 11 : positivité des tests en fonction des espèces chez les bacilles

III.5.2) En fonction de la β lactamase détectée

III.5.2.1) Chez les souches sécrétant une Pénicillinase

Tableau XXIV : Fréquence cumulée de la positivité chez les souches sécrétant une Pénicillinase

		Cocci (88)	Bacilles (63)
β lactamase	Nbre	63	55
	%	71,59	87,30
Pénicillinase	Nbre	54	29
	%	85,71	52,72
Iodimétrie	Nbre	44	
	%	81,48	
Acidimétrie	Nbre	31	
	%	57,41	
AMPI	Nbre	30	19
	%	55,55	65,52
Céfinase	Nbre	38	14
	%	70,37	48,27
Céfazoline	Nbre	31	9
	%	57,41	31,03

L'Iodimétrie apparait plus sensible que l'Acidimétrie et l'Ampicilline chez les souches qui sécrètent une Pénicillinase.

Chez les souches sécrétant une Pénicillinase, la Céfinase est plus sensible que la Céfazoline chez les Cocci comme chez les bacilles. La fréquence élevée de la positivité de ces deux tests peut s'expliquer par la production des deux types de β lactamase ou par une réaction croisée.

* *Les Cocci*

Chez *Staphylococcus epidermidis* la fréquence de détection des β lactamases positives est plus élevée avec l'Acidimétrie (75 %) qu'avec l'Iodimétrie (50 %) contrairement aux autres Cocci.

L'Ampicilline donne un pourcentage de positivité comparable à celui de l'Acidimétrie pour *S. aureus* Méthi-résistantes, *S. epidermidis* et les Entérocoques. Avec les méthi-sensibles elle apparaît moins sensible vu le nombre réduit des souches positives.

Quant à la Céfazoline, elle détecte plus de β lactamases chez les souches de *S. aureus* Méthi-sensibles produisant une Pénicillinase (78,57 %). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que 85,71 % de ces souches donnent des réactions positives dans la détection d'une Pénicillinase et d'une Céphalosporinase.

De même chez les *Staphylococcus epidermidis* 75 % des souches sont Céfazoline positive alors que 50 % sécrètent les deux types de β lactamases. Ceci nous fait supposer une sensibilité des Pénicillinases sécrétées par ces souches au substrat Céfazoline.

Chez les Entérocoques et les Streptocoques sécrétant une Pénicillinase, le test à la Céfazoline donne des résultats élevés (respectivement 62,50 et 66,66 %)

* *Les bacilles*

Avec les bacilles à Gram négatif, nous avons choisi l'Ampicilline comme seul substrat dans la détection des Pénicillinases, ce qui explique que toutes les souches sont en même temps Pénicillinase positive et Ampicilline positive.

La Céfazine donne des pourcentages de détection élevés.

Pour la Céfazoline, 66,66 %, des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et 60 % des souches de *Escherichia coli* sont positives.

III.5.2.2) Chez les souches sécrétant
une Céphalosporinase

Tableau XXVI : Résultats cumulés de la positivité des tests
chez les cocci et les bacilles
(pour les Céphalosporinases)

		Cocci (52)	Bacilles (22)
β lactamase	Nbre	63	58
	%	71,59	
Céphalosporinase	Nbre	47	40
	%	74,47	68,96
Iodimétrie	Nbre	35	
	%	74,47	
Acidimétrie	Nbre	26	
	%	41,27	
AMPI	Nbre	27	20
	%	42,86	50
Céfinase	Nbre	44	39
	%	93,62	97,50
Céfazoline	Nbre	33	27
	%	70,21	67,50

Dans l'ensemble, l'Iodimétrie est plus sensible que l'Acidimétrie pour la détection des β lactamases chez les Cocci produisant une Céphalosporinase.

L'Ampicilline, la Céfinaise et la Céfazoline donnent beaucoup plus de positifs chez les cocci que chez les bacilles du même type.

Nous constatons que la Céfinaise et la Céfazoline sont les tests les plus sensibles.

L'Iodimétrie est positive avec 35 des 47 Cocci Céphalosporinase positive. L'Acidimétrie et l'Ampicilline respectivement 26 et 27 souches. Cette positivité des tests ayant comme substrat une penicilline chez les souches productrices de Céphalosporinase, nous fait avancer la possibilité de réaction croisée.

* *Chez les Cocci*

Les tests donnent des résultats supérieurs à 60 % de positivité chez les souches de *S. aureus* Méthi-résistantes sécrétant une Céphalosporinase, le test le plus sensible étant la Céfinase (100 % de positifs). L'Iodimétrie et l'Ampicilline donnent des réactions positives dans 63,16 % de ces souches. La positivité de l'Acidimétrie est de 84,21 %.

Chez les souches de *S. auréus* Méthi-sensibles où nous avons détecté le pourcentage le plus élevé de Céphalosporinases.

La Cefinase est le test le plus sensible (100%).

La Céfazoline donne 92,31 % de positivité .

Avec *Staphylococcus épidermidis*, tous les tests donnent 100 % de positivité, ce qui peut s'expliquer par le fait que nous avons chez toutes les souches Céphalosporinases positives une sécrétion de Pénicillinase.

La prévalence des positifs est élevée chez les Streptocoques si nous considérons la Céfinase (85,71 %), la Céfazoline (57,14 %). L'Iodimétrie détecte des pourcentages moins élevés de β lactamases alors que l'Ampicilline donne 85,71 % de positivité.

Chez les Enterocoques, la Cefazoline est plus sensible que la Cefinase (respectivement 83,33 % et 66,66 % de positivité). L'Iodimétrie n'a été positive pour aucune souche sécrétant une Céphalosporinase par contre le test à l'Ampicilline donne 66,66 % de positivité.

Nous remarquons que pour la détection des Céphalosporinases, l'Acidimétrie, l'Ampicilline et l'Iodimétrie donnent des pourcentages considérables de positifs.

Nous déduisons de ce constat que les Céphalosporinases peuvent avoir une sensibilité aux substrats utilisés dans ces tests. Nous devons cependant tenir compte en plus du fait que chez ces souches, une proportion importante de réaction croisées.

* *Chez les Cocci*

Les tests donnent des résultats supérieurs à 60 % de positivité chez les souches de *S. aureus* Méthi-résistantes sécrétant une Céphalosporinase, le test le plus sensible étant la Céfinase (100 % de positifs). L'Iodimétrie et l'Ampicilline donnent des réactions positives dans 63,16 % de ces souches. La positivité de l'Acidimétrie est de 84,21 %.

Chez les souches de *S. aureus* Méthi-sensibles où nous avons détecté le pourcentage le plus élevé de Céphalosporinases.

La Céfinase est le test le plus sensible (100%).

La Céfazoline donne 92,31 % de positivité .

Avec *Staphylococcus épidermidis*, tous les tests donnent 100 % de positivité, ce qui peut s'expliquer par le fait que nous avons chez toutes les souches Céphalosporinases positives une sécrétion de Pénicillinase.

La prévalence des positifs est élevée chez les Streptocoques si nous considérons la Céfinase (85,71 %), la Céfazoline (57,14 %). L'Iodimétrie détecte des pourcentages moins élevés de β lactamases alors que l'Ampicilline donne 85,71 % de positivité.

Chez les Enterocoques, le Cefazoline est plus sensible que la Céfinase (respectivement 83,33 % et 66,66 % de positivité). L'Iodimétrie n'a été positive pour aucune souche sécrétant une Céphalosporinase par contre le test à l'Ampicilline donne 66,66 % de positivité.

Nous remarquons que pour la détection des Céphalosporinases, l'Acidimétrie, l'Ampicilline et l'Iodimétrie donnent des pourcentages considérables de positifs.

Nous déduisons de ce constat que les Céphalosporinases peuvent avoir une sensibilité aux substrats utilisés dans ces tests fait d'où la proportion importante de réactions croisées.

* *Chez les bacilles*

La Céfinaise reste très sensible. Il en est de même avec la Céfazoline avec l'exception des Klebsielles chez lesquelles seulement 23,53 % sont positives.

La fréquence des souches positives avec l'Ampicilline est de 50 % chez les Proteus et 40 % chez les Escherichia coli et P. aeruginosa.

En résumé, la comparaison entre les résultats des tableaux XXII et XXVII nous permet de nous rendre compte de la différence de sensibilité des tests selon qu'il s'agisse de Pénicillinase ou de Céphalosporinase.

Le tableau XXVIII matérialise cette comparaison

Tableau XXVIII : Comparaison de la positivité des tests entre les souches sécrétant une Céphalosporinase et celles sécrétant une Pénicillinase

	Nbre de β lactamase		Acidi- métrie	Iodi- métrie	Ampi- cilline	Cefi- nase	Cefa- zoline
Cocci n = 88	63	P	57,71	81,48	55,55	70,37	57,41
		C	41,27	74,47	42,86	93,62	70,21
Bacille n = 63	55	P			65,52	48,27	31,03
		C			50	97,5	67,5

Nous constatons que l'Acidimétrie, l'Iodimétrie et l'Ampicilline donnent plus de positif avec les souches sécrétant une Pénicillinase. Cependant, elles détectent des pourcentages élevés de souches Céphalosporinase positive, ce qui nous fait conclure soit à une réaction croisée, soit à une hydrolyse par ces souches du substrat Penicilline.

Il en est de même pour la Cefinaise et la Cefazoline qui ont des fréquences de positivité élevée avec les souches Pénicillinase positive (Figure 12).

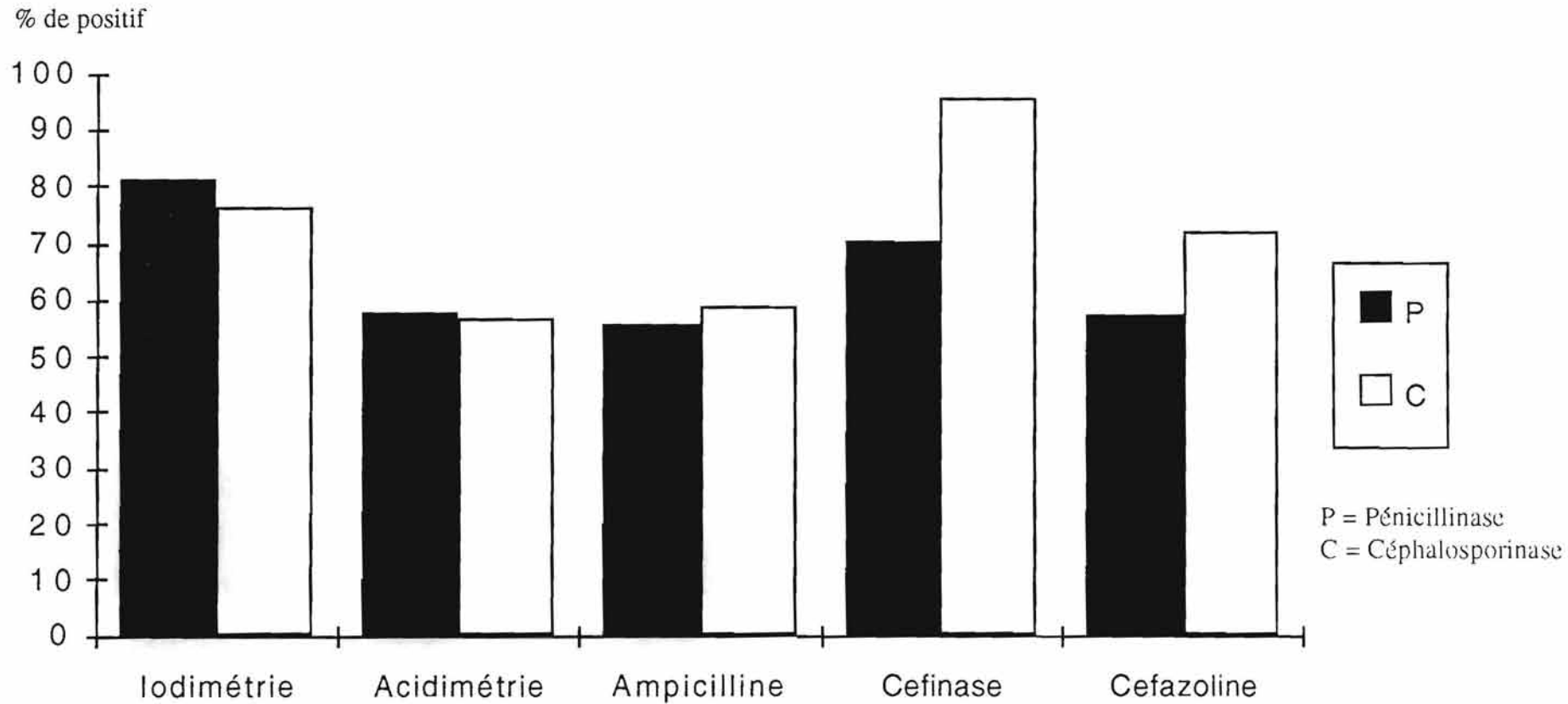


Fig. 12 : Comparaison de la positivité des tests entre les souches sécrétant une pénicillinase et celles sécrétant une céphalosporinase

III-6) Corrélation entre les tests

L'étude de la corrélation entre les résultats des différents tests nous permet de voir l'impact de la combinaison de plus d'un test pour la détection des bêta-lactamases.

Elle nous permet aussi de comparer la sensibilité des tests.

III.6.1) Céfinase et Céfazoline

Tableau XXIX : Corrélation entre la Céfinase et la Céfazoline pour l'ensemble des souches

Céfinase		Positif		Négatif		Total
Cefazoline	Positif	58	38,41	10	6,62	68
	Négatif	37	24,50	46	30,46	83
Total		95	62,91	56	37,08	151

Il ressort de ce tableau que la Céfinase est plus sensible que la Cefazoline car 37 % des souches qui sont révélées Céfazoline négative, la Cefinase donne des résultats positifs alors que 10 souches seulement sont Cefinase négative et Cefazoline positive.

Il convient de rappeler l'avantage d'utiliser les deux types de tests dans la mesure où l'association permet de classer la Céphalosporinase en haut niveau et en bas niveau.

Le tableau XXX montre en détails les résultats de cette corrélation en fonction de l'espèce. Nous constatons que chez toutes les espèces la Céfinase reste plus sensible que la Céfazoline (pour les raisons déjà évoquées) à l'exception de *S. épidermidis*, des Streptocoques.

**Tableau XXX : Corrélation Céfinase-Céfazoline
pour chaque espèce**

Céfinase			+	-	Total
C	Méthi R n = 28	+	12	0	12
		-	7	9	16
E	Méthi S n = 15	+	11	0	11
		-	2	2	4
A	S. epider- midis n = 7	+	2	2	4
		-	0	4	4
O	Streptocoque n = 37	+	4	7	11
		-	6	20	26
I	Klebsielle n = 19	+	4	1	5
		-	13	1	14
E	Salmonelle n = 17	+	9	0	9
		-	3	5	8
	P. aeruginosa n = 10	+	5	0	0
		-	1	4	5
	P. mirabilis n = 7	+	3	0	3
		-	3	1	4
	E. coli n = 10	+	8	0	8
		-	2	0	2
Total 151			95	56	151

III.6. 2) Acidimétrie Iodimétrie

Tableau XXXI : Corrélation entre l'Acidimétrie et l'Iodimétrie

Acidimétrie		Positif		Négatif		Total
Iodimétrie	Positif	21	23,86 %	19	21,59 %	40
	Négatif	14	15,91 %	34	38,64 %	48
Total		35	39,77 %	53	60,23 %	88

Ce tableau nous montre que dans l'ensemble l'Iodimétrie est plus sensible que l'Acidimétrie, car le pourcentage de souches Acidimétrie négative et Iodimétrie positive (21,59 %) est supérieur au pourcentage de souches Acidimétrie positive et Iodimétrie négative (15,91 %).

Par contre ces deux tests donnent des résultats concordants dans 62,5 % des cas (soit positif-positif et négatif-négatif). C'est-à-dire que chez ces souches les résultats des tests sont identiques.

D'après nos résultats, s'il y a à choisir entre les deux méthodes, il est préférable d'utiliser l'Iodimétrie qui donne 45,45 % de positivité au lieu de l'Acidimétrie (39,77 % de positivité).

Le tableau XXXII nous donne la corrélation entre ces deux testes pour chaque espèce.

Nous notons que chez *S. aureus* Méthi-résistants, *S. aureus* Méthi-sensibles et les Streptocoques, la constatation générale de la plus grande sensibilité de l'Iodimétrie par rapport à l'Acidimétrie est vérifiée. La seule exception s'observe avec les souches de *Staphylococcus épidermidis*.

Tableau XXXII : Corrélation entre Acidimétrie et Iodimétrie en fonction de l'espèce

Acidimétrie			+	-	Total	
I O D I M E T R I E	S. aureus Méthi R n = 28	+	10	9	19	
		-	1	8	9	
	S. aureus Méthi S	+	8	5	13	
		-	0	2	2	
	S.epider- midis n = 7	+	1	1	2	
		-	2	4	6	
	Strep- tocoques n = 35	+	2	9	11	
		-	6	20	26	
	Total			35	53	88

III.6.3) L'Acidimétrie et l'Ampicilline

Tableau XXXIII : Corrélation entre l'Ampicilline et l'Acidimétrie

Acidimétrie		Positif		Négatif		Total	
Ampicilline	Positif	16	18,18	17	19,32	33	37,5
	Négatif	14	15,91	41	46,99	55	62,5
Total		30		58		88	

D'après les mêmes constatations, l'Ampicilline apparaît plus sensible que l'Acidimétrie.

Les deux tests donnent 18,18% de positif-positifs et 46,99% de négatif-négatifs.

**Tableau XXXIV: Corrélation Acidimétrie-Ampicilline
en fonction de l'espèce**

Acidimétrie			+	-	Total
A M P	S. aureus	+	7	7	14
	Méthi R	-	4	10	14
I C M	S. aureus	+	3	2	5
	Méthi S	-	5	5	10
L I N E	S. épider- midis	+	2	0	2
	n = 7	-	1	5	6
	Strepto- coques	+	4	8	12
	n = 37	-	4	21	25
Total			30	58	88

L'Ampicilline donne des pourcentages de positifs plus élevés avec les souches de *S. aureus*, Méthi-résistants et les souches de *Streptocoques* à l'opposé de *S. aureus* Méthi-sensibles et des *Staphylococcus epidermidis*

III.6.4) L'Iodimétrie et l'AmpicillineTableau XXXV : Corrélation entre l'Iodimétrie et l'Ampicilline

Iodimétrie		Positif		Négatif		Total	
Ampicilline	Positif	24	27,27	9	10,23	32	36,36
	Négatif	21	23,36	34	38,64	56	63,64
Total		45	51,14	43	48,86	88	100

Comme dans le cas précédant, nous pouvons dire que l'Iodimétrie donne un pourcentage plus élevé de positivité (51,14%)

Le nombre de positif-positifs est de 27,27% et le nombre de négatif-négatifs de 38,64%

En fonction de l'espèce, les résultats sont consignés sur le tableau XXXVI.

Tableau XXXVI : Corrélation entre Iodimétrie et Acidimétrie en fonction de l'espèce

Iodimétrie			+		-		Total	
			Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
A M P I C I L L I N E	S. aureus Méthi R. n = 28	+	P	13	46,43	1	3,57	14
		-		6	21,43	8	28,57	14
I C I L L I N E	S. aureus Méthi S. n = 15	+	5	33,33	0	0	5	
		-	8	53,33	2	13,33	10	
S t r e p t o c o q u e	S. épidermidis n = 8	+	1	12,5	1	12,5	2	
		-	1	12,5	5	62,5	6	
	Streptocoque n = 37	+	5	13,51	7	18,92	12	
		-	6	16,22	19	51,86	25	

D'après ces résultats, l'Iodimétrie est plus sensible que l'Ampicilline avec les souches de *S. aureus* Méthi-résistantes, de *S. aureus* Méthi-sensibles et de *Staphylococcus epidermidis*. Avec les souches de Streptocoques nous observons l'inverse.

CHAPITRE W :
DISCUSSIONS

IV.1) BETA-LACTAMASE ET RESISTANCE BACTERIENNE

Les fortes résistances de nos souches peuvent être attribuées à un mécanisme enzymatique, dans la mesure où nous avons retrouvé 78,44 % des 151 souches étudiées sécrétant une β -lactamase plasmidique.

Plusieurs auteurs ont reconnu la prédominance de ce mécanisme dans la résistance bactérienne aux antibiotiques (1, 10,16,31).

En accord avec les résultats de l'étude de Fukatsu et coll (26), nous avons noté une prédominance de la production de β -lactamase chez les bacilles à Gram négatif par rapport aux cocci.

Tableau XXXVII : Pourcentage de β lactamase

Auteurs	FUKATSU (26)	Notre étude
Cocci	34 %	71,59 %
Bacilles à Gram négatif	76,3 %	87,30 %

La même étude fait état comme la notre de la prévalence des Pénicillinases chez les bacilles à Gram négatif.

En ce qui nous concerne, nous avons réparti les Pénicillinases et Céphalosporinases en haut et bas niveau.

En outre nous avons observé chez 44,07% des souches des réaction croisées Fukatsu (26) avait trouvé 25,4 %.

Ces résultats justifient en partie la multi-résistance des souches que nous avons testées.

Le pourcentage non négligeable (21,87 %) de souches chez lesquelles une β -lactamase plasmidique n'a pas été détectée nous fait incriminer d'autres mécanismes dans la résistance que nous avons observée

(18) à savoir la sécrétion d'enzymes autres que les β -lactamases plasmidiques, l'altération des cibles membranaires ou la modification de la perméabilité de la cellule bactérienne. La résistance peut être due également à d'autres bêta-lactamases non détectées par les tests utilisés

IV.1.1) Chez les cocci

Staphylococcus aureus : la littérature fait état de la production par un grand nombre de souches de *S. aureus* de β -lactamase (16).

Nous avons détecté 93,33 % des β -lactamases plasmidiques chez les Méthi-sensibles et 75 % chez les Méthi-résistantes. Ces résultats sont superposables avec ceux de GEYID (27) qui nous donnent 81 % et 62 % respectivement.

Chez les Méthi-Résistantes, le nombre de β -lactamases détecté est inférieur à celui des *S. aureus* Méthi-sensibles ; nous en déduisons que la Méthi-résistance et la sécrétion de β -lactamase plasmidique ne sont pas positivement corrélées conformément aux affirmations de Shoji S. (57)

D'autres enzymes de types "Méthicillinase" seraient mis en jeu dans la résistance à la Méthicilline de même qu'une modification de la PLP 2a (7,29).

Concernant la spécificité des β -lactamases les souches de *S. aureus* Méthi-résistantes produisent plus de Pénicillinase et en même temps sont moins sensibles à la Pénicilline G et plus sensibles à l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique.

L'inhibiteur associé à l'Amoxicilline a donc neutralisé une partie des Pénicillinases des *S. aureus* Méthi-résistantes alors que chez les Méthi-sensibles dont 46,67 % sont résistantes à cette association, l'acide clavulanique serait moins efficace sur les Pénicillinases sécrétées. (27)

Pour *S. aureus* les Céphalosporinases sont plus fréquentes chez les Méthi-sensibles que chez les Méthi-résistantes d'où la plus grande résistance aux Céphalosporines de 3^e génération des premières (60 % pour la Céftriaxone et 26 % pour la Céfotaxime).

En 1992, Salmah (52) a rapporté une forte résistance des *S. aureus* à la Pénicilline G, à l'Ampicilline et à la Carbénicilline en rapport avec une forte production de bêta-lactamase.

Staphylococcus epidermidis : parmi les cocci, c'est l'espèce chez laquelle nous avons détecté le pourcentage le plus faible de β -lactamase (50%).

Du point de vue de leurs caractères ces souches présentent une forte résistance à la Pénicilline G et une grande sensibilité à l'Amoxicilline + Ac. clavulanique.

Malgré un fort pourcentage de Céphalosporinases, l'activité des Céphalosporines de 3e génération testées reste élevée même si nous avons observé une résistance dans 27,5 0% de ces souches à la Céftriaxone et dans 25% à la Céfotaxime.

Les Streptocoques :

Les Enterocoques présentent moins de résistance aux Pénicillines que les autres cocci étudiés alors qu'ils sont les plus résistants à la Céftriaxone et à la Céfotaxime. Les fortes résistances aux Céphalosporines de 3e génération nous préoccupent d'autant plus que même si 57,14 % des souches ont produit une β -lactamase, les Céphalosporinases ne représentant que 28,57 %. LECLERCQ(33) a déjà signalé la forte résistance des Enterocoques vis-à-vis de ces antibiotiques

Nous signalerons la particularité des entérocoques d'associer une résistance aux aminosides à une production élevée de β -lactamase. La raison est que les 2 phénomènes cités sont associés à un même plasmide qui est transférable. (35)

Avec les autres Streptocoques 75% des bêta-lactamases ont été détectées mais les résistances aux Penicillines restent peu élevées alors que 75% des souches résistent à la Céftriaxone et 37,50% à la Céfotaxime.

IV.1.2) Les bacilles à Gram négatif

IV.1.2.1. Spectre étroit

Toutes les souches sélectionnées de Klebsielles , Proteus et Escherichia coli produisent des β -lactamases plasmidiques, d'après nos résultats ce qui met en évidence l'importance de ces enzymes dans les résistances observées avec ces souches.

Le pouvoir inhibiteur de l'Acide clavulanique est à reconsidérer dans la mesure où nous avons une proportion inquiétante de résistance face à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique qui nous fait croire que cet inhibiteur n'améliore que faiblement l'inefficacité décrite de l'Amoxicilline sur les bacilles à Gram négatif. (13,30,40) Cependant, la résistance à l'Amoxicilline + Ac clavulanique peut avoir comme support une résistance naturelle.

Pour les Céphalosporines, les plus grandes résistances s'observent avec la Céftriaxone alors que la Céfotaxime et la Céfotaxime semblent avoir la même activité élevée .(50,61)

La production en grande quantité de Céphalosporinase de bas niveau (68,42 %) qui n'ont pas réduit significativement l'activité des Céphalosporines de 3e génération peut justifier cette bonne activité de la Céfotaxime.

D'autres auteurs ont décrit la résistance à la Cefotaxime en rapport à une production de bêta-lactamase .(48)

La production par toutes les souches de E. coli de Céphalosporinase est un bon argument pour expliquer leur forte résistance face aux Céphalosporines de 3e génération (48). Dans d'autres études, c'est la production de β lactamase à large spectre (56) ou le phénotype pénicillinase haut-niveau décrit par Jarlier (32) qui sont incriminés pour les E. coli.

Les Salmonelles de notre étude se caractérisent par 82,35 % de résistance à l'association Amoxicilline /Ac-clavulanique alors que nous n'avons

pas décelé de Pénicillinase. A moins que ne soit incriminé la production de bêta-lactamase à spectre élargi.

Quant aux Céphalosporines de 3^e génération aucune souche de Salmonelle n'est résistante à la Céftriaxone et une seule souche est résistante à la Ceftazidime. Ces résultats ne concordent pas avec la production importante de Céphalosporinase surtout que les souches de salmonelles sont reconnues multirésistantes par production de β lactamase plasmidique (34,53).

Chez *Pseudomonas aeruginosa* où nous avons détecté 70 % de bêta-lactamase, toutes les souches sont résistantes à l'Amoxicilline + Ac-clavulanique alors que la Ceftazidime est active à 100 %.

Cette activité élevée de la Ceftazidime peut être due au fait qu'elle résiste à l'action des enzymes de type TEM produites par *Pseudomonas aeruginosa* (10).

Diene (21) le considère d'ailleurs comme le meilleur traitement contre les infections à *Pseudomonas*.

La présence des Céphalosporinase explique ici la résistance dans 20 % des souches à la Céfotaxime et la Ceftriaxone (10 %).

Ce profil nous fait penser aux Cefotaximases décrites en Argentine et qui sont faiblement inhibées par l'Ac-clavulanique (4).

IV.1.2.2) Bêta-lactamase à large spectre

Le pourcentage de souches chez lesquelles nous avons détecté des β lactamases à spectre élargie (BLSE) est inquiétant (16,66 %) et doit nous faire tenir compte nécessairement de ce mécanisme lors de la recherche de la sensibilité des souches aux antibiotiques.

Dans le même laboratoire où nous avons réalisé cette étude, plusieurs travaux ont fait état de cette sécrétion de β lactamase à large spectre (53,40) et d'autres sont en cours. Depuis la découverte de ces BLSE en 1983 en Allemagne (43) plusieurs types ont été décrits en fonction des constantes cinétiques des enzymes et il a été admis que ces β lactamases proviennent d'une mutation des anciens types(19,54,58,63).

Les souches produisant des BLSE présentent des diamètres d'inhibition très réduits aux céphalosporines de 2e et 3e génération qui signifient que leur niveau de résistance est peu élevé ; le test de synergie permet de déceler la sécrétion des BLSE chez les souches qui risquent d'être considérées comme sensibles d'où l'intérêt de cette recherche.

Nous avons trouvé en accord avec la littérature que toutes les BLSE détectées sont des céphalosporinases et SIROT (58) les classe en céphalosporinase inductible et en céphalosporinase constitutive.

Nos souches présentent les caractéristiques suivantes : résistance totale à l'Ampicilline, sensibilité à la Céfotaxime et à la Céfazoline et à l'Imipenem sauf une souche de Salmonella qui résiste à la Céfazoline.

Ce phénomène a été décrite par SIROT pour les entérocoques qui produisent des BLSE de type céphalosporinase inductible.

Sur les 9 souches ayant produit une BLSE, les 8 ont été identifiées avec l'Ac. clavulanique ce qui confirme que cet inhibiteur est le plus efficace sur de tels d'enzymes (50,58).

La prédominance des BLSE chez les Salmonelles doit servir de sonnette d'alarme d'autant plus que jusqu'à présent une prépondérance de ce mécanisme a été surtout décrite pour les Klebsielles (43) et les E.coli (56).

Déjà, en 1992 Sarr (53) avait décelé 8% de sécrétion de BLSE chez les Salmonelles.

IV.2) Corrélation des Méthodes de détection en fonction des souches bactériennes

Nous avons choisi une des rares études effectuées sur la comparaison entre un aussi grand nombre de méthodes rapides de détection des β lactamases.

La nature des B Lactamases sécrétées par les différentes souches étant variable, les méthodes utilisées pour la détection ne peuvent pas avoir la même spécificité.

IV.2.1) Acidimétrie

Ce test donne de meilleurs résultats avec les Staphylocoques ce qui confirme l'étude de Banic (3). Il faut noter la plus grande sensibilité de l'Acidimétrie avec les souches de Staphylococcus épidermidis qu'avec celles des S. aureus conformément aux résultats de DWENS (23)

IV.2.2) Iodimétrie

Avec une plus grande sensibilité, elle suit la même tendance que l'Acidimétrie. Nous tenons à répéter que surtout avec ce test, l'apparition de la positivité peut mettre un temps variable selon l'espèce (nous avons relevé une souche positive après 1h30mn d'incubation.

Cette méthode est reconnue rapide, simple réalisable dans chaque laboratoire (37).

IV.2.3) L'Ampicilline + BCP

Les pourcentages de positivité sont plus faibles avec les cocci mais une meilleure sensibilité pour les Staphylococcus aureus Méthi-résistantes est observée. Nous avons avancé comme hypothèse la résistance à la Méthicilline qui est décrite par beaucoup d'auteurs comme capable de conférer une résistance croisée aux autres bêta-lactamases (29,36) ce qui justifierait l'hydrolyse plus marquée de l'Ampicilline par cette espèce.

Aucune β -lactamase n'est détectée par le test à l'Ampicilline chez les Salmonelles.

Jarlier (32) les classe dans un phénotype sauvage qui ne produit pas de β -lactamase décelable par les méthodes usuelles. Une autre étude (34) explique la résistance élevée des Salmonelles à l'Ampicilline par production

de Pénicillinase plasmidique mais surtout chromosomique de type OXA-1. Enfin un autre argument pouvant être retenu comme cause du manque de sensibilité de ce test chez les Salmonelles c'est la forte secretion de β -lactamase à large spectre dont nous avons déjà parlé. Nous devons noter également la faible positivité de l'Ampicilline pour les Klebsielles et E. coli. Pourtant, une étude réalisée en Tunisie (6) relève la faible sensibilité de ces espèces à l'Ampicilline. On s'attendait à ce que les β -lactamases hydrolysent plus l'Ampicilline.

IV.2.4) La Céfinaise

Conformement à nos resultats, elle est reconnue sensible par plusieurs auteurs (23,59). Nous avons noté dans notre étude qu'elle présente une plus grande sensibilité pour S. aureus que ne l'est l'Acidimétrie.

IV.2.5) La Céfazoline

Elle apparait moins sensible que la Céfinaise mais elle a l'avantage d'être plus spécifique dans la détection des Céphalosporinases, la Céfinaise pouvant être positive dans certains cas en présence d'enzyme autre que la β -lactamase (59) en plus des possibilités d'interférence avec d'autres produits comme l'albumine que contiendrait le milieu de culture .(20)

Chez S. aureus Méthi-sensibles, la Céfazoline donne des résultats sensiblement identiques à ceux de la Céfinaise nous en déduisons que cette méthode est très sensible avec S. aureus. Il en est de même avec les Streptocoques et Pseudomonas aeruginosa.

Chez Proteus mirabilis, S. aureus Méthi-résistant et les Escherichia coli, la Céfazoline est beaucoup moins sensible que la Céfinaise.

Nous avons constaté donc que les tests ont des sensibilités variables en fonction des espèces. En plus, ils permettent de distinguer les Penicillinases des Céphalosporinases.

Cependant des substrats destinés à l'hydrolyse par l'une des enzymes peuvent être attaqués par l'autre.

Ainsi, des réactions croisées expliquent le fait qu'il n'y ait pas une différence trop marquée entre la positivité des tests qu'ils s'agissent de souches produisant une céphalosporinase ou une Pénicillinase.

Une autre illustration de cette possibilité de réactions croisées est constituée par le fait qu'un pourcentage important de souches secrète à la fois les deux types de β lactamase. Ce qui fait qu'au total le profil de résistance des souches s'élargit aux Pénicillines et Céphalosporines.

La sécrétion de bêta-lactamase de nature variée est reconnue chez presque toutes les espèces bactériennes. Cette étude a été initiée pour évaluer les différentes méthodes rapides de détection des Bêta-lactamases. Nous avons essayé de trouver l'importance de la production de Bêta-lactamase dans la résistance que nous avons observée chez les souches sélectionnées.

Notre étude a concerné 151 souches dont :

- 88 cocci (Staphylococcus aureus Méthi-résistants et Méthi-sensibles, des Staphylocoques epidermidis, des Streptocoques et des Enterocoques) ;

- 63 bacilles à Gram négatif comprenant des Klebsielles, des Salmonelles, des Proteus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli. Ces souches sont choisies en raison de leur résistance à une bêta-lactamine. Parmi les Pénicillines (Pénicilline G et Amoxicilline + Acide Clavulanique) et les Céphalosporines (Céftriaxone, Céfotaxime, Céfuroxime, Ceftazidime).

Les méthodes que nous avons choisies d'évaluer sont :

- pour les bacilles à Gram négatif : l'Ampicilline + Bromocrésol pourpre, la "Céfinase" et la Céfazoline + Bromocrésol Pourpre ;

- pour les Cocci, nous avons choisi en plus des méthodes énumérées, l'Acidimétrie et l'Iodimétrie.

L'Acidimétrie est une méthode par modification de pH, de même que l'Ampicilline et la Céfazoline ; l'Iodimétrie est une méthode réductimétrique et la Céfinase une méthode chromogénique.

Ces différentes méthodes permettent de détecter les Bêta-lactamases plasmidiques.

La sécrétion de Bêta-lactamase a été mise en évidence dans 78,44 % des 151 souches avec une prédominance chez les bacilles à Gram négatif (87,30 %) par rapport aux Cocci (71,59 %).

Ainsi, dans 21,56 % des souches, nous n'avons pas détecté de β -lactamases malgré la résistance de ces souches ; ce qui fait incriminer d'autres mécanismes de résistance.

Les β -lactamases se répartissent en Pénicillinases et Céphalosporinases avec 44,07% des souches qui sécrètent les 2 types de β -lactamases.

Les β -lactamases plasmidiques sont présentes dans 93,33 % des souches de *S. aureus* Méthi-sensibles ; dans 75 % des *S. aureus* Méthi-résistantes ; dans 50 % de *Staphylococcus epidermidis* ; dans 75 % des Streptocoques ; dans 57,14% de *S. enterocoques*; dans 100 % des souches de *Klebsiella* ; *Proteus* et *Escherichia coli* enfin dans 70,59 % des souches de *Salmonelles*.

Dans la plupart des cas, nous avons détecté une β -lactamase plasmidique chez les souches résistantes ou multirésistantes.

Notre étude confirme que les souches produisant une Pénicillinase sont surtout résistantes aux Pénicillines G et l'Association Amoxicilline + acide clavulanique et que les Céphalosporines sont souvent inefficaces sur les souches sécrétant une Céphalosporinase.

Sur les bacilles à Gram négatif nous avons recherché en plus une sécrétion de Bêta-lactamase à large spectre (BLSE) ; 16,66 % des souches ont sécrété ce type de β -lactamase ce qui montre une nette progression de cette résistance.

Les BLSE sont ainsi réparties :

- 17 % des *Salmonelles* ;
- 20 % des *E. coli* ;
- 14,28 % des *Proteus mirabilis*;
- et 5,26 % chez les *Klebsielles*.

Les souches produisant une BLSE ont présenté un profil de résistance particulier caractérisé par une résistance à l'Ampicilline, une sensibilité à la Céfotaxime , à la Céfazoline et à l'Imipenem.

Nous avons ensuite essayé de classer les β lactamases en Céphalosporinases et Pénicillinases à haut et bas niveau.

Cette classification se fait en tenant compte du profil substrat ainsi :

- les Pénicillinases à haut niveau hydrolysent la Pénicilline G et l'Ampicilline alors que les Pénicillinases à bas niveau n'hydrolysent que la Pénicilline G.

- les Céphalosporinases à haut niveau attaquent la Nitrocéfine et la Céfazoline et les bas niveaux n'attaquent que la Nitrocéfine.

Le profil substrat peut permettre de pousser la classification en distinguant les Céfotaximases, Ceftazidimases, Céfuroximases etc.

La classification que nous avons choisie donne des renseignements utiles pour la routine de laboratoire ; cependant pour avoir de plus amples informations sur la nature des β lactamases il aurait fallu utiliser des techniques plus approfondies telles les techniques d'isoelectrofocalisation.

C'est une électrophrèse qui se fait en présence d'ampholytes et elle permet de séparer les β lactamases en fonction de leur point iso-électrique. L'identification se fera en comparaison avec un échantillon de point isoélectrique connu. Cette technique permet de distinguer les TEM, les SHUT, les OXA etc.

L'évaluation des différentes méthodes nous permet de dégager leurs avantages à savoir leur rapidité, leur simplicité et facilité de réalisation. Quant à la sensibilité, elle varie en fonction de l'espèce.

En outre, les méthodes que nous avons réalisées en tube peuvent être adaptées en disque ce qui augmente leur facilité de réalisation.

La Céfinase apparait comme la méthode de référence parmi celles que nous avons choisies en raison de sa grande sensibilité. Cependant, la "Céfazoline" apparait plus spécifique dans la détection des Céphalosporinases.

Pour la recherche des Pénicillinases, l'Iodimétrie donne plus de réactions positives, suivie de l'Acidimétrie puis de l'Ampicilline.

Ainsi, pour les Cocci, nous recommandons de rechercher des Bêta-lactamases à spectre étroit par l'Iodimétrie chez *Staphylococcus aureus* Méthi-résistants, les Méthi-sensibles et les Streptocoques. Par contre pour les *Staphylococcus epidermidis* la sensibilité de l'Acidimétrie est meilleure.

Chez les bacilles à Gram négatif, la Céfinaise est plus sensible, mais il est préférable de l'associer à la Céfazoline et à l'Ampicilline.

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ACAR J. F., BOUANCHAND D. H. ET BUU HOI (A)
Résistance bactérienne aux antibiotiques.
Bactériologie-Med, Flam, Med-Sc, 1982, 2e Ed : 213-224.
- 2- ARTHUR M. ET AL
Technique d'étude du support génétique de la résistance aux antibiotiques.
L'antibiogramme mPc- Vidéom, 1ere Ed, Paris ,1985: 251-305
- 3- BANIC S.
Efficiency and suitability of the Penicillin-Phenol red acidimetric test for detection of Bêta-lactamase production in staphylococci.
J. chemother., 1991 ; 3 (6) : 348-351.
- 4- BAVERFEIND A. AND AL
A new plasmidic Cefotaximase from patients infected with *S. typhimurium*.
Med . Mal. Inf., 1992 ; 3 (20) : 158-163.
- 5- BELLON J., MONTON A. P.
Distribution of Bêta-lactamase in Enterobacteriaceae : indoor versus outdoor strains.
Chemother., 1992 ; 2 (30) : 77-81.
- 6- BEN HAMED S., KANOUN F., KHCHAREM N. ET ELLOUZE F.
Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif à l'hôpital de SFAX.
Med. Mal. Inf., 1988, 2 bis ; 115-117.
- 7- BEN HASSEN A., BEN ABDALLAH T., KAMOUN A., C. FENDRI C., BENALGIA A., MATRI A ET BEN REDJEB S.
Infections nosocomiales à Staphylococcus en milieu de réanimation médicale (1985-1989) à Tunis.
Bull. Soc. Patho. Exo, 1992 ; 85 : 171-275.

- 8- **BENNANI M.**
Intérêt des inhibiteurs des Bêta-lactamases en Antibiothérapie.
Thèse Médecine, Dakar, 1989, n°4.
- 9- **BINGEN E.**
Mécanisme d'action des β lactamines.
In "Mecanisme d'action des Béta lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule".
Nice, Laboratoire Roussel, 1986, p7-30.
- 10- **BINGEN E.**
Différents mécanismes de résistance bactérienne aux β lactamines.
In "Mecanisme d'action des Béta lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule".
Nice: Laboratoire Roussel, 1986, p p32-45.
- 11- **BINGEN E.**
Classification, structure des β lactamines et relation structure activité.
In "Mecanisme d'action des Béta lactamines de la structure bactérienne à la structure de la molécule".
Nice, Laboratoire : Roussel, 1986 , pp47-62.
- 12- **BOUCHERLE A.**
Les inhibiteurs des Bêta-lactamases.
Revue Essaydali, 1984, n°11 ; 22-34.
- 13- **BUSH L. M., CALMON J., JOHNSON C. C.**
Newer Penicillins and bêta-lactamase inhibitor.
Infect. Dis. Clini. North. Am., 1989 ; 3(3) : 571-594.
- 14- **CHABBERT Y. A.**
Données actuelles sur la résistance des bactéries aux antibiotiques.
Actua. Pharmacol, 1972, 26e série : 27-60.

15- COURVALIN P.

Plasmides de résistance aux antibiotiques.
Bact. Med., Flam. Med-Sc, 1982 ; 60-62.

**16- COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILLIPON A.
ET SIROT J.**

Détection des Bêta-lactamases.
L'antibiogramme, MPC-Vigot, Bruxelles, 1985 ; 225-236.

**17- COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILLIPON A.
ET SIROT J.**

Détection d'une enzyme inactivant les antibiotiques.
L'antibiogramme, MPC-Vigot, Bruxelles, 1985 ; 293-298.

18- CULLMAN W.

Influence of Bêta-lactamases on bacterial resistance.
Immunitat Und Infektion, 1981 ; 9 (3) : 119-28.

19- CULLMAN W.

The threat of resistance to the new oral Cephalosporin.
Chemother., 1992, Suppl 2 : 10-17.

**20- CYNTHIA H., O'CALLAGHAN ., MORRIS A.,
SUSAN M., KIRBY AND SHINGLER H.**

Novel Method for detection of Bêta-lactamase by using a chromogenic
Cephalosporin Substrate.
Antimicrob. Agents Chemother, 1972, Vol 1 n°4, 283-288.

21- DIENNE J. F.

Infections urinaires nosocomiales dans le service d'Urologie du CHU A.
Le Dantec.
Thèse Médecine, Dakar, 1993, n°11.

- 22- DOWSE L. J., PRIGENT B. M.**
Epidemiology of Bêta-lactamase in Africa : correlation with resistance to Beta-lactamase Antibiotics.
Clinical Therapeutic, 1991 ; 13 (2) : 243-253.
- 23- DWENS W. E., WATTS J. L.**
Antimicrobial susceptibility and Beta-lactamase testing of Staphylococci isolated from dairy herds.
J. Dairy Science, 1988 ; 71 (7) : 1934-1939.
- 24- FALKOW S.**
Infections multiple drug resistance.
Ed Pion, London, 1975.
- 25- FREDERIK SPARLING P.**
Résistance aux antibiotiques : Haemophilus influezae et Gonocoques.
Tempo Med, 1981, n°78: 43-53
- 26- FUKATSU H. AND AL**
Detection of Bêta-lactamase producing strains isolated from urinary tract and there suceptibility.
Hinyokika kiyo-Acta Urologica Japonica, 1990 ; 36 (5) : 569-571.
- 27- GEYID A., LEMENEH Y.**
The incidence of Methicillin resistant S. aureus Strain in clinical specimens in relation to their Bêta-lactamase producing and multiple-drug resistance properties in Addis Abeba.
Ethiopian Medical Journal, 1991 ; 29 (4) : 149-161.
- 28- GUTMANN L.**
Spectre des inhibiteurs de Bêta-lactamases.
Med. Mal. Infect, 1989 ; 52-56.

- 29- GUTMANN L., GOLDSMITH F.**
Staphylocoques et Bêta-lactamines.
Paris, 1985, 1ère ed : 23-28.
- 30- HSU LY-CHANG S. C., LUH K. T., HSEIH W. C.**
Antibacterial activities of Amoxicillin alone and in combinaison with Clavulanic acid correlation with Bêta-lactamase.
Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 1991 ; 24(3) ; 272-280.
- 31- IGARI J., TAKANINE F., IMAMURA S.**
Present status of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus and susceptibility to antimicrobial agents in 6 hospitals in Okinowa.
Rinsho-Buyori, 1990 ; 38(9) : 975-982.
- 32- JARLIER V.**
Enterobacteries et Bêta-lactamines.
L'antibiogramme,mpc-Videon,Paris, 1ère Ed, 1985 : 87-90.
- 33- LECLERCQ R.**
Streptocoques et autres antibiotiques.
L'antibiogramme, mpc-videon, 1er Ed, Paris ; 49-56.
- 34- LING J. M., ZHOU G. M., WOO T. H., FRENCH G. L.**
Antimicrobial susceptibilities and Bêta-lactamase production of Hong-Kong isolates of gastroenteric Salmonella and Salmonella typhi.
J. Antimicrob. Chemother., 1991 ; 28(6) : 877-885.
- 35- MARKOVITZ S. M., WELLS V. D., WILLIAMS D. S., STUART C. G., COUDRON P. E., WONY E. S.**
Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of β lactamase-producing, aminoglycoside-resistant isolates of *E. faecalis*.
J. Antimicrob. Agents and Chemother., 1991 ; 35 (6) : 1075-1080.

- 36- MASSIDDA O., MONTANARI M. P., VARALDO P. E.**
 Evidence for a methicillin hydrolyzing Bêta-lactamase in *S. aureus*
 Strains with borderline suceptibility to this drug.
Fem Microbiology Letters, 1992 ; 71 (3) : 223-227.
- 37- MAZURA F.**
 Determination of Bêta-lactamase production Strain of *Staphylococcus aureus* isolated from the milk of cows.
Veterinari Medecina, 1990 ; 35(5) : 267-274.
- 38- MICHEL BRIAND Y.**
 Les nouveaux aspects de la thérapeutique antibiotique : les inhibiteurs d'enzymes.
 Compte-rendus des sc. de la Soc.de Biologie.
Tome 176, n°4, 1982 : 454.
- 39- MOAT N.**
 Les nouvelles Bêta-lactamines.
Med et Mal. Infect, 1987, n° spécial, 43-48.
- 40- NDIAYE Y. K.**
 Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques et de la résistance, par sécrétion de Bêta-lactamase à spectre élargi de souches de bacilles à Gram négatif isolées au CHU de Dakar.
Thèse Pharmacie, Dakar, 1992, n°95.
- 41- PELTIER G.**
 Les trois grands principes de l'électrophorèse
Analysis 1989, V17, n°8 : p 28 - 31.
- 42- PHILLIPPON A.**
 Les bêta-lactamases
An. Institut Pasteur, 1982, 92, p7 - 11.

- 43- PHILIPPON A., FOURNIER G., PAUL G., VEDEL ET NEVOT P.
Détection et distribution des Béta-lactamases à spectre élargi chez les Entérobactéries
Med. Mal. Inf. 1988 , 12 ,869 - 876.
- 44- PHILIPPON A., GERARD C., PAUL AND GEORGE A.
New plasmid-mediated oxacillin-hydrolyzing Béta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*
J. Antimicrob. chemother (1986), 17 : 415 - 422.
- 45- PHILIPPON A., PAUL G., NEVOT P.
Les inhibiteurs de bêta-lactamase : principes théoriques et intérêt thérapeutique
Lettre infect. Tom I, n°9, mai 1986.
- 46- PHILIPPON A., PAUL G., NEVOT P.
Mécanisme de résistance enzymatique aux Béta-lactamases
Presse Med., 1986, 15, n°46.
- 47- PHILIPPON A., THABAUT A. NEVOT P.
Pseudomonas aeruginosa et Béta-lactamases
L'Antibiogramme, mpc-Videon Paris, 1e ed , 1985 : 103 - 109.
- 48- QUIN J. P., MIYASHIRO D., SAHM D., FLAMM R., BUSH R.
Novel Plasmid - Mediated Béta-lactamase (TEM-10) Conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of *Klebsiella*.
Antimicrob. Agents and chemother.,1989, 33(9) : 1451 - 6.

- 49- **REINER R.**
Antibiotic : an Introduction.
Roche, Sc. service, New York, 1982.
- 50- **RICHARD C., PHILIPON A., MBOUP S., VIEU J. F.**
Epidémiologie des infections pédiatriques à *Klebsiella* dans deux hôpitaux de Dakar.
Production de Bêta-lactamase à spectre élargi (1987-1988).
Med. Mal. Inf., 1989 ; 19 (12) : 753-759.
- 51- **ROBERT C., COOKSEY**
Mechanisms of resistance to antimicrobial agents.
Antimicrobial Agents and Susceptibility tests ; 1099-1104.
- 52- **SALAMAH A. A.**
Antibiotic resistance and plasmids of some human isolates of *S. aureus*.
Microbiologica, 1992 ; 15 (2) : 191-195.
- 53- **SARR EH. D.**
Evaluation de la sensibilité de Salmonelles aux Antibiotiques dans un hôpital pédiatrique africain : recherche de Bêta-lactamases.
Thèse Pharmacie, Dakar, 1992, n°26.
- 54- **SCANDERS C. C.**
Bêta-lactamases of Gram négative bacteria : new challenges for new drugs.
Clin. Infect. Dis., 1992 ; 14 (5) : 1089-1099.
- 55- **SCHOENKNECHT F. D., SABATH L. D.,
AND THORNSBERG F. D.**
"Susceptibility tests : special tests.
In manuel of Clinical Microbiology, 5e ed.
Am. Soc. for Microbiology Washington D C, 1985 ; p 100-1008.

- 56- SHAOKAT S., SIROT D., MBOUP S., PETAT E., RICH C., GOLY B., DENIS F. ET CLERZEL R.**
 Résistance aux antibiotiques et distribution particulière des Bêta-lactamases plasmidiques chez les Colibacilles isolés de diarrhées infantiles aiguës en Afrique.
Med. Mal. Infect., 1988 ; 11 : 824-828.
- 57- SHOJI S., KIKUCHI H., WATANABE A., MOTOMIYA M.**
 The Bêta-lactamase activity in Méthi-R-Staphylococcus aureus : a comparaison of the Bêta-lactamase from a Méthi-R and from a Méthi-S Strains of S. aureus.
Nippon Ainsho-gapanese J. of Clin. Med., 1992 ; 50(5) : 1049-1053.
- 58- SIROT J.**
 Resistance enzymatique des bactéries à Gram négatif aux céphalosporines de 3e génération.
Med. Mal. Inf., 1989 ,hors serie ; 24-30.
- 59- TAKESHI Y.**
 Clinical and bacteriological studies on sulbactam/Cefoperazone.
In Sulbactam : an advance in over coming bacterial resistance.
Sc. Press., Seoul, 1986 ; 9-16.
- 60- THABAUT A., MEYRAN M.**
 Nouvelles Bêta-lactamines.
 Essais de Classification, relation, structure, activité.
Tempo. Med., 1981 ; 78 : 9-53.
- 61- TOURE A.**
 Etude prospective des souches de Staphylocoques à Coagulase Négative isolées au CHU de Dakar :
 - sensibilité aux antibiotiques
 - phénotype de résistance aux β lactamines.
Thèse Pharmacie, Dakar, 1992, n°93.

- 62- UNASYN.**
Testing for β lactamases.
Information of the microbiologist , 1986: 23-25.
- 63- VEDEL G., MABILAT C., GOUSSARD S., PICARD B.,
FOURNEIR G., GRILLY L., PAUL G., PHILLIPPON A.**
Two variants of transferrable extended-spectrum TEM -Bêta-lactamases
successibility isolated from clinical E. coli isolates.
Fems Microbiology Letters, 1992 ; 72 (2) : 161-162.
- 64- VIEU J. F., SAMB A., DIAHA-ALLOU., DOSSOU M.,
LEPERS J. P., MOUZOU-MORENO C., PECARIERE J. C.
ET KLEIN B.**
Sensibilité aux antibiotiques de 580 souches post-hospitalières de
Pseudomonas aeruginosa isolées en Côte d'Ivoire, Mauritanie, Niger,
Sénégal et Iles Canaries.
Med. Mal. Inf., 1989 ; 19 (5) : 319-321.
- 65- WIEDERMANN B.**
Plamid-mediated extended spectrum Bêta-lactamases.
Med. Mal. Infect., 1992 ; 22 : 524-528.
- 66- WILLIAMSON R., COLLATZ E., GUTMANN 4.**
Mécanisme d'action des Bêta-lactamines et mécanisme de résistance non
enzymatique.
Presse Med., 1986 ; 15, n°46 : 2282-2296.
- 67- WURMA-RAPP V., KAYSEN F. H., BARBERIS-MAINO L.**
Antibacterial properties of Imipenemes with special reference to the
activity against Methicillin resistant Staphylococci, Cefotaxime resistant
Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.
Antimicrobial chemother, 1986, Suppl E, 27-33.

SERMENT DE GALLIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

