

جامعة محمد السادس بن بوعيسى
كلية العلوم الطبيعية والحياتية
المسكنية
رقم الجرد : A.B. J.D...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Science
De la Nature et de La vie



جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Département de Biologie Moléculaire
et Cellulaire

Mémoire De Fin D'étude Pour L'obtention Du Diplôme DES en Biologie

Option : Microbiologie

Intitulé

RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES BACILLES A GRAM NEGATIF

Membres Jury :

Examinatrice : M^{me}. BOURZAMA Ghania
Encadreur : M^{me}. YOUSFI Khadidja

Réalisé par :

- GUERDOUH Roqiya
- KIKHA Hakima
- GUERDOUH Soumia



Remerciement

*Nous tenons à
Remercier en premier lieu
Le dieu « ALLAH »*

La personne qui nous à fait l'honneur de

Nous encadrer :

Yousfi Khadidja

Pour tous ses effets et ses conseils

Nous remercions le jury : Bourzama qui a

Accepté de juger notre travail

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à

Nos parents

De plus nous remercions nos familles et toute personne

Ayant aidé de près ou de loin à la réalisation de ce

Travail

A tous un grand et chaleur

Merci



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	01
I. Bacilles à Gram négatif.....	02
I.1. Bacilles à Gram négatif aérobies strictes.....	02
I.1.1. <i>Pseudomonadaceae</i>	02
I.1.2. <i>Legionellaceae</i>	02
I.1.3. <i>Moraxellaceae</i>	03
I.1.4. <i>Brucellaceae</i>	04
I. 2. Bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies facultatifs.....	05
I. 2.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	05
I.2.2. <i>Vibrionaceae</i>	06
I.2.3. <i>Pasteurellaceae</i>	07
I.2.4. <i>Aeromonadaceae</i>	09
I.3. Bacilles à Gram négatif anaérobies stricts.....	09
I.3.1. <i>Bacteroidaceae</i>	09
II. Antibiotiques.....	10
II.1. Classification des antibiotiques selon le mode d'action.....	10
II.1.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de membranes.....	10
a) Polyméxine.....	10
b) Nitrofurame.....	10
II.1.2. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane.....	11
a) β -lactamine.....	11
➤ Pénames (pénicillines).....	11
➤ Pénèmes ou carbapénèmes.....	13
➤ Céphames (les céphalosporines).....	14



➤ Monobactames.....	15
b) Glycopeptides.....	16
c) Fosfomycines (antibiotiques phosphoniques).....	16
II.1.3. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines.....	17
a) Aminosides.....	17
b) Tétracyclines.....	17
c) Phénicoles.....	18
d) Macrolides et apparentés.....	18
e) Autres antibiotiques.....	20
➤ Oxazolidones.....	20
➤ Acide fusidique.....	20
II.1.4. Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques	21
a) Quinolones.....	21
b) Sulfamides.....	21
c) Rifamycines.....	22
e) Nitroimidazoles.....	23
III. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	24
II.1. Origine de la résistance.....	24
III.1.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque).....	24
III.1.2. Résistance acquise.....	24
III.1.2.1. Résistance par mutation chromosomique.....	24
III.1.2.2. Résistance par acquisition de gènes.....	25
III.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	25
III.2.1. Inactivation enzymatique.....	25
III.2.1.1. Enzymes inactivant les β -lactamines (β -lactamases).....	25

➤ Classe A (β -lactamases à sérine).....	26
➤ Classe B (mérallo- β -lactamases).....	26
➤ Classe C (β -lactamases à sérine).....	26
➤ Classe D.....	26
III.2.1.2. Enzymes inactivant les aminosides.....	29
III.2.1.3. Enzymes inactivant les phénicoles.....	29
III.2.1.4. Enzymes inactivant les macrolides et apparentées (MLS).....	29
III.2.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques par modification de la cible.....	29
III.2.2.1. Modification et altération de protéines liant les pénicillines (PLP).....	29
III.2.2.2. Modification des précurseurs du peptidoglycane.....	30
III.2.2.3. Modification des ribosomes.....	30
III.2.2.4. Modification de l'ADN topoisomérase et de l'ADN gyrase.....	30
III.2.2.5. Modification de l'ARN polymérase.....	31
III.2.2.6. Modification des enzymes impliquées dans la synthèse des folates.....	31
III.2.3. Modification de la perméabilité membranaire	31
III.2.4. Mécanisme d'efflux.....	32
IV. Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques.....	32
IV.1. Antibiogramme.....	32
IV.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	33
IV.3. Concentration minimale bactéricide(CMB).....	33
V. Evolution de la résistance aux antibiotiques.....	34
Conclusion.....	35
Références bibliographies	
Annexe	



*Liste des
abréviations*

Liste des abréviations

- AAC : Aminosides Acétyl-Transférases
- AC : Acide Clavulanique
- ADH : Alanine DéHydrogénase
- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- ANT : Aminosides Adénylyl-Transférases
- APH : Aminosides Phospho-Transférases
- ARN : Acide Ribonucléique
- PAB : Para-AminoBenzène
- BCYE : Bufferd Charcol Yeast Extract
- BGN : Bacille à Gram Négatif
- BLSE : β -Lactamase à Spectre Etendu
- CIN : Cefsulodine-Irgason-Novobiocine
- C3G : Céphalosporine de troisième Génération
- CMB : Concentration Minimale Bactéricide
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- DCLS : Agar Citrate, Lactose, Saccharose, Désoxycholate
- EDTA : Ethylrne Diamine TetraceticAcid
- Glu : Glucose
- GN : Gram Négatif
- GP : Gram Positif
- GVPCO: GlycineVancomycin Polymyxin B Cycloheximide
- Km: Constant d'affinité
- Lac : Lactose
- LDC : Lysine Décarboxylase
- MAS : Motile *Aeromonas*Septicemia
- NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
- NADP⁺ :Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
- nm :nanomètre
- ODC : Ornithine Décarboxylase
- ONPG : OrthoNitfoPhényl-Galactose
- OXA : OxacillinHydrolysingAbilities
- PAC : Polymyxin BAnisomycinCefamandole
- PBL : PolymyxineBacitracineCycloheximide
- PLP :Protéine Liant à Pénicilline
- RM : Rouge de Méthyle
- SS : *Salmonella-Shigella*
- TCBS : Gélose Thiosulfate Citrate Sels Biliaires Sucrose
- TSA : L'agar de Soja Ttryptique
- UDP : Urédine DiPhosphate
- Vmx: VitesseMaximale
- VP : Voges Proskauer
- XLD : Xylose LysineDésoxycholate
- μm : micromètre



Liste des figures

Liste des figures

Figure 01 : structure chimique de l'anneau de β -lactame.....	11
Figure 02 : structure chimique de la pénicilline.....	12
Figure 03 : structure chimique de carbapénème.....	14
Figure 04 : structure chimique de céphalosporine.....	14
Figure 05 : structure chimique de monobactame.....	16
Figure 06 : structure chimique des glycopéptides.....	16
Figure 07 : structure chimique de la fosfomycine.....	17
Figure 08 : structure chimique de la streptomycine	17
Figure 09 : structure chimique de la tétracycline	18
Figure 10 : structure chimique du chloramphénicol.....	18
Figure 11 : structure chimique de l'érythromycine.....	19
Figure 12 : structure chimique de la dalbapristine.....	19
Figure 13 : structure de l'oxazolidone (linozolide).....	20
Figure 14 : structure chimique d'acide Naldixique.....	21
Figure 15 : structure des sulfamides.....	22
Figure 16 : structure chimique de la rifamycine et la conversion en autres molécules.....	23
Figure 17 :schéma réactionnel de l'ouverture de cycle du β -lactame	26
Figure 18 : représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux.....	32



Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : caractères biochimiques de <i>P. aeruginosa</i>	02
Tableau II : caractères distinctifs entre les trois familles.....	05
Tableau III : principaux milieux de culture des entérobactéries.....	06
Tableau IV : caractères différentiels des principaux genres.....	07
Tableau V : classification des céphalosporines en quartes générations.....	15
Tableau VI : spectre d'action des macrolides, lincosamides et streptogramines....	20
Tableau VII : représentants des différentes classes de β -lactamases selon la classification d'Ambler.....	28

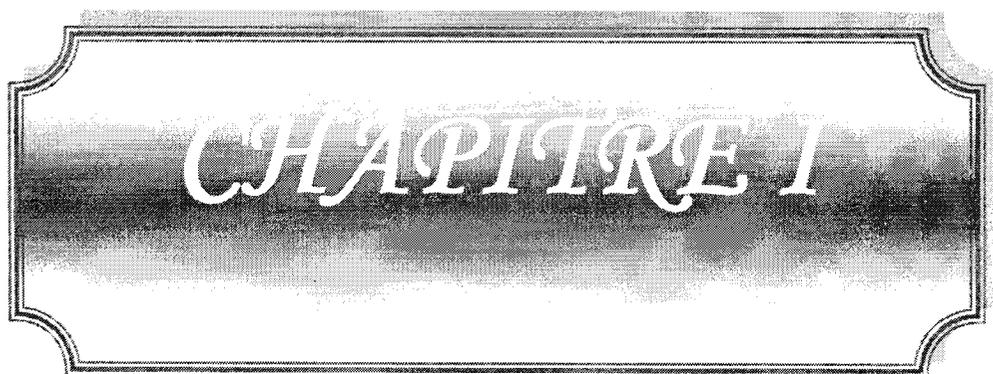
Introduction

Introduction

Les bacilles à Gram négatif sont des germes responsables de pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ce caractère des infections à bacilles Gram négatif est dû en grande partie, au pouvoir toxique de ces agents infectieux et à leur grande capacité de résistance aux antibiotiques. La plupart des infections bactériennes peuvent se traiter par des antibiotiques. Le choix de l'antibiotique dépendra du germe causant l'infection, de son "antibiogramme" (spectre de susceptibilité aux antibiotiques), et du lieu de l'infection (pénétration par l'antibiotique). Très souvent, face à une infection ou à une suspicion d'infection, le germe n'est pas connu. Le choix de l'antibiotique se fait en fonction du type de germes le plus fréquemment rencontré dans ce genre d'infection.

Depuis l'avènement de l'antibiothérapie, l'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes. Cette résistance peut être le résultat de mutations spontanées avec activation ou modification de déterminants chromosomiques déjà présents dans le génome bactérien ou la conséquence de l'acquisition de gènes situés sur des éléments génétiques mobiles. Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou aux quelques antibiotiques de structure voisine, cependant on observe depuis plusieurs années l'émergence de mécanismes de résistances croisés. Parmi les mécanismes de résistances, spécialement, chez les bacilles à Gram négatif, la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques (exemple, β -lactamases). La modification de cible antibiotique empêchant l'action de ces derniers, comme par exemple la résistance aux fluoroquinolones par modification des topoisomérases de classe II, et par la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotique. Ce phénomène peut être dû à une imperméabilité exemple, la résistance à l'imipénème par modification ou perte de la porine OprD chez *Pseudomonas aeruginosa* et/ou à un transport actif vers l'extérieur de la cellule *via* des transporteurs membranaires appelés pompe d'efflux. C'est à ces différents types de résistance d'importance croissante chez les bacilles à Gram négatif que se focalise l'objectif de cette étude.

Ainsi, au cours de ce travail nous aborderons tout d'abord les bacilles à Gram négatif et les antibiotiques, les plus utilisés, dans leurs généralités pour ensuite présenter les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques plus spécifiquement chez les bacilles à Gram négatif.



CHAPITRE I

I. Bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif sont des bactéries en forme bâtonnet prenant une coloration rose après application de la méthode de coloration décrite par Gram (éliminent le cristal violet et apparaissent rose). Ils occupent une place très importante en pathologie infectieuse humaine. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations (Hart et Shears, 1997).

I.1. Bacilles à Gram négatif aérobies strictes

I.1.1. Famille des *Pseudomonadaceae*

Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets Gram négatif, droits ou incurvés, mobiles par cils polaires. Elles sont chimio-organotrophes, aérobies strictes. Leur métabolisme est respiratoire, jamais fermentatif, elles se développent entre 4 C⁰ et 43 C⁰. A la différence des bactéries des familles voisines elles sont incapables de fixer l'azote atmosphérique comme *Azotobacteraceae*, de vivre en association symbiotique avec certaines légumineuses comme les *Rhizobiaceae*, d'oxyder le méthanol ou le méthane comme les *Methylococcaceae*, le genre représentant cette famille est *Pseudomonas aeruginosa* (Leclere *et al.*, 1995).

Les principaux caractères biochimiques de cette espèce sont présentés dans le tableau I.

Le Tableau I : caractères biochimiques de *P. aeruginosa* (Brenner *et al.*, 2005).

Caractères biochimiques	mobilité	uréase	indol	lac	glu	citrate	RM	VP	oxydase	LDC	ADH
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+

a) Milieux de culture des *Pseudomonadaceae*

Les *Pseudomonas sp.* peuvent croître sur les milieux habituels, en particulier sur la gélose au sang. Les milieux sélectifs pour entérobactéries conviennent, également, pour les cibler au sein d'une flore mixte (gélose de Mac Conkey, gélose de Drigalski). Les milieux sélectifs, à base de cétrimide par exemple, peuvent être utilisés pour isoler *P. aeruginosa* de sources environnementales. En raison de la facilité de croissance sur tous les milieux ordinaires, les méthodes moléculaires de diagnostic par amplification sont sans intérêt (Monteil et Harf-Monteil, 2002).

b) Pouvoir pathogène des *Pseudomonadaceae*

Certains *Pseudomonades* sont des agents pathogènes animaux et végétaux importants. *P. aeruginosa* infecte les personnes les moins résistantes, envahit les tissus brûlés et cause des infections des voies urinaires. Des *Pseudomonades* telles que *P. fluorescens* sont impliquées dans l'avarie du lait, de viandes, d'œufs et de fruits de mer réfrigérés ; elles se développent en effet à 4 C⁰ et dégradent les lipides et les protéines (Prescott *et al.*, 2003).

I.1.2. Famille des *Legionellaceae*

Les *Legionella* sont des bacilles de 0.3 à 0.9 µm de large sur 2 à 20 µm de long, mobiles par flagelles polaires ou subpolaires, oxydase négative (ou faiblement positive) nitrate réductase négative, uréase et gélatinase négative. Ces bactéries exigent de la L-cystéine et du fer pour la croissance stimulée par CO₂, et utilisent les acides aminés comme source d'énergie et de carbone. Les glucides ne sont ni fermentés, ni oxydés. *Legionella* est isolé des eaux notables, des

eaux chaudes, de la boue et des systèmes de climatisation. Leur paroi contient en prédominance des acides gras ramifiés exceptionnel chez les bactéries à Gram négatif (Larpen, 2000 ; Leclereet al., 1995).

Les *Legionella* sont résistants aux β -lactamines mais sensibles aux macrolides, aux fluoroquinolones et à la rifampicine (Naciel et Vilde, 2005).

a) Milieux de cultures des *Legionellaceae*

Les *Legionella* sont des bactéries incapables de se développer sur les milieux bactériologiques usuels même enrichis par du sang ou des peptones ; chlorhydrate de cystéine est indispensable et cette exigence est un des caractères essentiels pour le diagnostic du genre (Leclereet al., 1995).

Divers milieux ont été successivement utilisés. On n'utilise plus que le BufferdCharcolYeastExtract additionné d'acide alpha glutarique ou BCYE alpha incubé à 35°C sous 2,5 à 5% de CO₂. Ce milieu est rendu sélectif par l'adjonction de différents antibiotiques. On utilise le plus souvent un mélange : vancomycine, céfamandole, polymyxine B, anisomycine (Avrilet al., 1992).

La culture sur milieux spécifiques est la méthode de référence. Elle nécessite au minimum 2 à 3 jours (Naciel et Vilde, 2005).

En plus de milieu BCYE- alpha, on a des autres milieux sélectifs permettent de développement et la croissance des *Legionella* telles que :

- ✓ Agar différentiel BCYE;
- ✓ Agar sélective BCYE avec GVPC ;
- ✓ Agar sélective BCYE avec PAC (Larpen et Gourgaud, 1997).

b) Pouvoir pathogène de *Legionella*

Toutes les espèces de *Legionella* sont potentiellement pathogènes pour l'homme mais, *L. pneumophila* est de loin la plus fréquente. La maladie la plus documentée est connue sous forme de légionnaires, une pneumopathie aigue, de pronostic grave, des infections pulmonaires aiguës dont la durée d'incubation est de 2-10 jours. La fièvre de Pontiac est une autre forme clinique ; elle est bénigne et guérit spontanément. Cette maladie touche principalement des sujets âgés ou immunodéprimés et transmise à l'homme par inhalation d'aérosols infectieux provenant de l'eau (Leclereet al., 1995).

I.1.3. Famille des *Moraxellaceae*

Les membres de la famille des *Moraxellaceae* sont des diplobacilles à extrémités arrondies, Gram négatif, toujours mobiles, isolés ou en courtes chainettes, accompagnés de formes cocci plus ou moins nombreuses, plus rarement de forme allongées et selon la deuxième édition de *Bergys* cette famille comprend trois genres : *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter* (Larpen, 2000).

Les genres de cette famille sont rependus dans des divers milieux ; *Moraxella* sont des bactéries commensales des voies respiratoires de l'homme et des animaux, comme les bovines, les lapins, les porcs et les chevaux. Les *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquistes présentes naturellement dans le sol et les eaux (Larpen et Gourgaud, 1997 ; Leclereet al., 1995).

a) Milieux de cultures des *Moraxellaceae*

Les milieux de culture utilisés pour le genre *Acinetobacter* sont :

- ✓ La gélose de Drigalski : les colonies sont lactose négative, lisses, à bords nets ;
- ✓ L'agar de soja tryptique (TSA) : les colonies présentent les mêmes aspects, la réaction de oxydase est négative celle de catalase est positive ;
- ✓ Le milieu Mueller-Hinton : les cultures ne sont pas inhibées par la pénicilline (Larpent, 2000).

Le genre *Moraxella* ne se développe pas sur la gélose lactosé de Drigalski mais sur le TSA ou de préférence sur gélose au sang ou sur gélose « gonocoque-méningocoque) les colonies sont lisses, à bords nets (Larpent et Gorgand, 1997).

b) Pouvoir pathogène des *Moraxellaceae*

La famille *Moraxellaceae* comprend des genres pathogènes qui provoquent de plusieurs infections pour l'homme et les animaux :

- ✓ Les *Acinetobacter* sont des opportunistes qui sont plus en plus fréquemment rencontrés dans les infections nosocomiales chez les malades immunodéprimés : septicémies, méningites, endocardites, pneumonies (Leclere *et al*, 1995).
- ✓ Les *Moraxella* comme celles d'*Acinetobacter* sont des pathogènes opportunistes qui provoquent plusieurs infections comme la conjonctivite aigue et bénigne (*M. lacunata*) et ulcères cornéens et suppurations pulmonaires (*M. nonliquefaciens*) (Larpent et Gourgaud, 1997).

I.1.4. Famille des *Brucellaceae*

Les *Brucellaceae* sont aérobies strictes, catalase positive ; la réaction de l'oxydase est généralement positive. La production de H₂S et l'activité uréasique varient selon les espèces : la grande majorité des souches isolées en pathologie humaine produisent une uréase énergétique. Le citrate n'est pas utilisé, le tryptophane n'est pas catabolisé (pas de production d'indole et absence de tryptophane désaminase), les réactions de VP et de rouge de méthyle sont négatives (Larpent, 2000).

Le principal genre de cette famille est le *Brucella* qui comprend de petits coccobacilles, trapus, immobiles, généralement isolés. Ils peuvent exiger une atmosphère enrichie en CO₂. Les cellules de *Brucella* peuvent survivre dans l'environnement par exemple, dans le fumier, les litières, la terre ou les poussières (Larpent et Gourgaud, 1997).

a) Milieux de culture des *Brucellaceae*

Les principaux milieux de culture de genre *Brucella* : agar Kuzdas-Morase; agar *Brucella* modifié; hémoline-trypticase-soja (diphase) (milieu de castaneda); bouillon, *Brucella* D ; Milieu PBC (polymyxine, bacitracine, cycloheximide) (Hart et Shears, 1997).

b) Pouvoir pathogène des *Brucellaceae*

Toutes les espèces de *Brucella* sont pathogènes pour les animaux et certaines le sont pour l'homme. La brucellose est une maladie infectieuse affecte les bovins, caprins, ovins et porcins (réservoir de la bactérie), l'homme aussi peut être infecté :

- ✓ Par contact directe avec les animaux malades principalement les ruminants. Les personnes les plus exposées sont les agriculteurs et les vétérinaires (maladie professionnelle) ;
- ✓ Par ingestion du lait cru ou de fromages frais de fabrication artisanale, principalement fromage de chèvre ou de brebis ;
- ✓ Par inhalation (Larpen et Gourgaud, 1997).

La brucellose est très répandue dans le bassin méditerranéen (fièvre de Malte, fièvre méditerranéenne) et dans nombreuses régions du monde (Larpen et Gourgaud, 1997).

I. 2. Bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies facultatifs

Comprend quatre familles sont : *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Pasteurellaceae* et *Aeromonadaceae*. Le tableau II représente les caractéristiques distinctives entre les différentes familles de ce groupe.

Tableau II : caractères distinctifs entre les trois familles (Leclereet *al.*, 1995).

Caractères	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Pasteurellaceae</i>
Bacille	droit	incurvé ou droit	droit
Mobilité	v	+	-
Flagelles	péritriches	polaire	-
Oxydase	-	+	-
Exigence en sodium	-	V	-
Antigène commun des entérobactéries (O, K, H)	+	-	-

V : variable selon les espèces

I. 2.1. Famille des *Enterobacteriaceae*

Ce sont des bacilles non sporulés, Gram négatif, aérobie facultatif, immobiles ou mobiles par flagelles péritriches. Ils sont également oxydase négative, ont des besoins nutritionnelles relativement simples et fermentent les sucres en divers produits finaux, les caractéristiques phénotypiques utilisées pour séparer les entérobactéries des autres bactéries de morphologie et physiologie semblables (Madigan et Martinko, 2007).

Parmi les nombreuses espèces d'*Enterobacteriaceae* certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux. Exemple : *Klebsella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* peuvent être isolés à partir de nombreux écosystèmes : tube digestif, eau, sol, aliments, végétaux, céréales, etc (Avrilet *al.*, 1992 ; Laclereet *al.*, 1995).

Dans cette famille des entérobactéries, certaines bactéries forment le groupe ancien des coliformes, ayant les propriétés suivantes :

- ✓ Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase (-), aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs ;
- ✓ Ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents ;

- ✓ Ils fermentent le lactose avec production d'acides et de gaz en 48 heures à une température de 35 à 37 C⁰ (± 0,5 C⁰) (Delarras, 2007).

a) Milieux de culture des *Enterobacteriaceae*

Les principaux milieux d'enrichissement sélectif liquide pour les entérobactéries sont : bouillon lactosé et bouillon Mossel et les principaux milieux d'isolement sélectif sont : la gélose Drigalski, la gélose Hektoen, gélose Mac Conkey (avec cristal violet). Le tableau III, représente les principaux milieux utilisés pour la culture des entérobactéries (Delarras, 2007).

Tableau III : principaux milieux de culture des entérobactéries (Hart et Shears, 1997).

Milieux	principaux ingrédients	utilisation
Gélose CIN (cefsulodine-irgason-novobiocine)	Base peptonée et antibiotiques	Sélectif des <i>Yersinia</i>
Milieu de Kligler-Hajna	Gélose peptonée au lactose, glucose, rouge de phénol et sulfate ferreux	Milieu en pente pour différencier les entérobactéries
Gélose SS (<i>Salmonella-Shigella</i>)	Base peptonée aux sels biliaires, lactose, citrate de fer et rouge neutre	Milieu sélectif d'isolement des <i>Salmonella</i> et des <i>Shigella</i>
Gélose XLD (xylose-lysine-désoxycholate)	Extrait de levure, lysine, xylose, lactose et citrate de fer	Milieu sélectif et différentiel pour <i>Shigella</i> (colonies roses), et <i>Salmonella</i> (colonies roses et noires)
Gélose de Mac Conkey au sorbitol	Base peptonée aux sels biliaires, sorbitol et rouge neutre	Différenciation des colibacilles ne fermentant pas le sorbitol (<i>E. coli</i> O 157 :H7)

b) Pouvoir pathogène des *Enterobacteriaceae*

Les *Enterobacteriaceae* est un habitant majeur du colon de l'homme et des animaux à sang chaud, il est très utile à l'analyse de la contamination fécale des eaux. Certaines souches causent des gastroentérites ou des infections des voies urinaires, plusieurs genres entériques contiennent des pathogènes humains très importants responsables de diverses maladies : *Salmonella* ; la fièvre typhoïde et les gastroentérites, *Shigella* ; la dysentérie bacillaire, *Klebsiella* ; la pneumonie, *Yersinia*; la peste. Les membres du genre *Erwinia* sont des germes pathogènes importants pour les plantes cultivées et sont la cause de rouilles, de flétrissements et de plusieurs autres maladies végétales (Prescott et al., 2003).

I.2.2. Famille des *Vibrionaceae*

Les membres de la famille des *Vibrionaceae* sont des bâtonnets Gram-négatif droits ou incurvés, possédant des flagelles polaires. La plupart sont oxydase positive et tous utilisent le D-glucose comme source unique ou principale de carbone et d'énergie. En majorité, ce sont des microorganismes aquatiques très répandus dans les eaux douces et marines. Il y a six genres dans la famille : *Vibrio*, *Photobacterium*, *Enhydrobacter*, *Salinivibrio*, *Listonella* et *Allomonas*(Prescott et al., 2003).

a) Milieux de cultures des *Vibrionaceae*

Les milieux les plus utilisés pour cette famille sont :

- ✓ Gélose thiosulfate citrate sels biliaires sucrose (TCBS) : des colonies jaunes le cas des *V. cholerae* ou colonies vertes le cas des *V. parahaemolyticus* (Hart et Shears, 1997).
- ✓ Agar citrate, lactose, saccharose, désoxycholate (DCLS) : Sélectif pour les *Vibrio* (Larpen et Gourgaud, 1997).

b) Pouvoir pathogène des *Vibrionaceae*

Plusieurs *Vibrions* sont des pathogènes importants. *V. cholerae* est l'agent responsable du choléra et *V. parahaemolyticus* cause parfois des gastroentérites chez les humains après consommation de fruits de mer contaminés. *V. anguillarum* et d'autres sont responsables de maladies chez les poissons (Prescott et al., 2003).

I.2.3. Famille des *Pasteurellaceae*

La seconde édition du *Bergeys* classe la famille des *Pasteurellaceae* dans l'ordre des *Pasteurellales* et la traite de façon forte semblable à ce qu'on trouvait dans la première édition. En particulier, ce sont de petites bactéries, non mobiles, normalement oxydase positives, ayant des besoins nutritionnels complexes, et parasites de vertébrés. La famille comprend six genres : *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Lonepinella*, *Mannheimia* et *Phocoenobacter* (Prescott et al., 2003).

Les genres principaux de cette famille sont : *Pasteurella*, *Haemophilus* et *Actinobacillus*.

Tableau IV: caractères différentiels des principaux genres de la famille *Pasteurellaceae* (Larpen et Gourgaud, 1997).

	ONPG	ODC	Uréase	Indole	Exigence facteur V (NAD ⁺ ou NADP ⁺)
<i>Pasteurella</i>	±	±	±	±	-
<i>Haemophilus</i>	±	±	±	±	±
<i>Actinobacillus</i>	±	-	±	-	-

a) Milieux de cultures des *Pasteurellaceae*

La culture d'*Haemophilus* est impossible sur gélose ordinaire car il nécessite certains facteurs : facteur X (hémine sert à synthétiser les cytochromes) et facteur V (NAD) parce qu'il est incapable de les synthétiser, il faut donc les fournir dans le milieu de culture. Les principaux milieux de culture d'*Haemophilus* sont : gélose au sang cuit et gélose chocolat + polyvitamines. L'incubation à 24-48 heures sous CO₂ ou O₂. On obtient des colonies grisâtres, petites et transparentes (Gautier-Lerestif et al., 2003).

Milieu pour *Pasteurella* : agar cystine heart supplément ; agar Mac Conkey ; agar sang ; agar urée (Larpen et Gourgaud, 1997).

b) Pouvoir pathogène des *Pasteurellaceae*

Les membres de cette famille les mieux connus sont ceux qui causent des maladies chez les humains et un nombre d'animaux important. *Pasteurella multocida* et *P. haemolytica* sont des germes pathogènes animaux. *P. multocida* est responsable du choléra de la volaille qui tue chaque année de nombreux poussins, dindes, canards et oies. *P. haemolytica* est au moins en partie responsable de pneumonies chez le bétail, les moutons et les chèvres. *H. influenzae* type b est un agent pathogène humain majeur qui cause diverses maladies dont une méningite chez les enfants (Prescott et al., 2003).

Les autres infections sont plus rares. Il peut s'agir, d'infections des voies respiratoires et parfois de septicémies sur des terrains fragiles (cirrhose). *H. ducreyi* est l'agent du chancre mou (maladies vénériennes). *H. aphrophilus* est une bactérie de la plaque dentaire de l'homme, occasionnant des endocardites et des abcès de cerveau (Leclere et al., 1995).

Le genre *Actinobacillus* comprend cinq espèces qui sont pathogènes ou commensales des animaux domestiques, l'espèce *A. actinomycetemcomitans* est pathogène pour l'homme ; associée aux actinomycètes, Il est responsable du plus de 30% des cas d'actinomycose (Leclere et al., 1995).

I.2.4. Famille des *Aeromonadaceae*

Bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature polaire, non sporulés, chimio-organotrophes, aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur d'électrons, réduisant les nitrates en nitrites, ne réduisant pas les nitrites en azote, le plus souvent oxydase positive, généralement capables d'assimiler le glucose, généralement capables d'utiliser les sels d'ammonium comme unique source d'azote, mésophiles ou psychrophiles, ayant pour habitat principal l'eau douce, également isolés de sédiments ou d'animaux aquatiques (poissons, grenouilles, ...) (Prescott et al., 2003). Les *Aeromonas* sont des bactéries à Gram négatif, mésophiles mobiles par des flagelles polaires ou psychrophiles non mobiles. Malgré le fait que 19 espèces ont été nommées classées, seules quelques-unes d'entre elles sont reconnues comme des agents pathogènes pour l'homme, tels que *A. hydrophila*, *A. caviae* et *A. veronii* ; ce qui représente près de 85% des isolats cliniques, bien que d'autres espèces ont été récupérés à partir des sources cliniques (de Oliveira Scoarise et al., 2008).

a) Milieux de culture des *Aeromonadaceae*

L'isolement des *Aeromonadaceae* a été effectué selon la normalisation française V45-111 (1985) par ensemencement sur milieu sélectif TCBS (thiosulfate-citrate-bile-sodium). L'isolement à partir de selles nécessite plutôt des milieux sélectifs (gélose au sang enrichie d'ampicilline 20 à 30g/ml) mais peut également être fait à partir de milieux standards pour l'isolement de bacilles à Gram négatif (Mac Conkey, Drigalski) (Essid et al., 2007 ; Aumaître et al., 2004).

b) Pouvoir pathogène des *Aeromonadaceae*

Aeromonas dont plusieurs espèces sont pathogènes pour l'homme, les poissons, les grenouilles et d'autres animaux vertébrés ou invertébrés. Ils sont responsables d'infections variées allant de la gastroentérite sécrétoire banale à un syndrome cholériforme avec diarrhée aqueuse importante pouvant se chroniciser. Le réservoir naturel est l'environnement hydrique. Les eaux de puits, citernes, piscines sont ainsi mises en cause. Une prédominance estivale des cas est notée. *Aeromonas hydrophila* et *A. caviae* peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires (isolés à partir d'aliments contaminés). Les troubles engendrés sont souvent mineurs, expliquant la faible incidence rapportée. Le rôle de certaines espèces d'*Aeromonas* en tant qu'agents

responsables de diarrhée est reconnu si elles sont isolées en phase aiguë en quantité suffisante et qu'aucun autre agent pathogène n'est mis en évidence (Aumaître *et al.*, 2004).

La MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) est une septicémie hémorragique provoquée par des bactéries de la famille des *Aeromonadaceae*. Leur caractère ubiquiste dans le milieu aquatique, la variabilité phénotypique ainsi que l'isolement sur des poissons apparemment sains ou avec d'autres pathologies rendent difficile l'appréciation du réel pouvoir pathogénique de ces bactéries. *Aeromonashydrophila*, *A. cavie* et *A. sobria* sont communément reconnues comme responsables de cette pathologie, mais des études taxonomiques et génétiques associent à cette maladie au moins dix autres taxons d'*Aeromonas* mobiles. La pathogénicité de ces bactéries dépend de nombreux facteurs intrinsèques aux souches. Cipriano (2001) suggère que la combinaison d'une activité protéolytique et hémolytique correspond à une meilleure mesure de la virulence des souches de *A. hydrophila* et *A. sobria*. Cependant, la maladie dépend aussi de l'environnement d'élevage (température, charge organique, densité, concentration bactérienne, etc.), ainsi que de l'état du poisson (Caruso, 2009).

I.3. Bacilles à Gram négatif anaérobies stricts

I.3.1. Famille de *Bacteroidaceae*

Ce sont des bâtonnets Gram négatif de formes variées, anaérobies, non sporulant, mobiles ou non mobiles. Ces bactéries sont des chimio-hétérotrophes et ils produisent généralement un mélange d'acides organiques comme produits finaux de la fermentation ; ils ne réduisent pas les sulfates, ni d'autre composés soufrés. Les genres sont identifiés suivant des propriétés comme la forme générale, la mobilité la disposition des flagelles et les produits de fermentation (Prescott *et al.*, 2003).

Selon la deuxième édition de *Bergys*, la famille des *Bacteroidaceae* est comprend sept genres : *Bacteroides*, *Acetomicrobium*, *Acetofilamentum*, *Acetothermus*, *Anaerophaga*, *Anaerorhabdus* et *Megamonas*.

Le genre *Bacteroides* est le plus important de cette famille. Il s'agit de bacille à Gram négatif non sporulé, anaérobie strict, qu'il soit mobile ou immobile. Il constitue une grande partie de la flore endogène normale (cavité buccale, tractus respiratoire, digestif et urogénital) et est responsable de plus de 50% des infections humaines dues à des anaérobies (Avril *et al.*, 1992).

a) Milieux de culture des *Bacteroidaceae*

Les milieux usuels sont représentés par la gélose au sang pré réduit et le milieu de wilkins on observe des colonies fines, régulières et translucides le cas de genre *Bacteroides*(Hart et Shears, 1997).

b) Pouvoir pathogène des *Bacteroidaceae*

Les *Bacteroidaceae* peuvent être pathogènes, les infections se localisent au niveau de l'appareil digestif et du tractus génital féminin. Ces bactéries libèrent une collagénase, une hyaluronidase et une chondroïtinesulfatase qui dénaturent les constituants cellulaires. Les *Bacteroides* peuvent également entraîner des infections pleur pulmonaires, oropharyngées, gynécologiques et septicémiques (Larpen et Gourgaud, 1997).

Les espèces du groupe *B. melaninogenicus*, *B. oralis* sont associées à la plaque dentaire. Ces bactéries peuvent être responsables de la maladie humaine. Les espèces du groupes *B. fragilis* sont rencontrées dans l'infections intra-abdominales les abcès périrectaux, les ulcères de décubitus tandis que celles du groupe *B. melaninogenicus* et *B. oralis* sont isolées dans les infections bucco-dentaires ou pleuro-pulmonaires (Leclereet *al.*, 1995).



CHAPITRE II

II. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances produites par des micro-organismes (bactéries ou champignons) afin de se défendre vis-à-vis des micro-organismes en compétition pour leur environnement ce concept avait été émis en 1897 par Duchesne qui n'y vit de prime abord qu'un intérêt de recherche fondamentale puis a été redécouvert fortuitement par Flemming : ce dernier, ayant laissé moisir ses cultures bactériennes eut la surprise de constater de larges zones d'inhibition bactérienne à proximité des moisissures de *Penicillium*. Ils se sont écoulés douze années avant que Chain et Florey puissent mettre en application la découverte de Flemming et aboutir à la commercialisation de la pénicilline en 1943. Une frénésie de criblage des micro-organismes a abouti à la découverte de la céphalosporine C dans *Cephalosporium acremonium* des eaux de Sardaigne (Brotzu, 1945). La plupart des antibiotiques présents sur le marché sont des produits issus de la fermentation (Adenot, 2000).

Le mot antibiotique provient de deux termes Grec anti : contre, et bios : la vie. Les antibiotiques sont des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes. Ils sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules, ces molécules peuvent avoir une action bactéricide, leur efficacité peut être également limitée à empêcher le développement des micro-organismes (bactériostatiques). Un antibiotique est donc un médicament qui a pour effet de tuer des bactéries de façon ciblée. Il se distingue d'un antiseptique qui détruit tout germe et parfois même la cellule, de manière non ciblée (Ziadi, 2010).

II.1. Classification des antibiotiques selon le mode d'action

On peut classer les antibiotiques d'après plusieurs critères : origines, nature chimique, spectre d'action. Ils ont aussi été classés en fonction de leur mode d'action, donc on distingue quatre catégories de molécules :

- ✓ Antibiotiques agissant sur les membranes ;
- ✓ Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane ;
- ✓ Antibiotiques inhibant la synthèse protéique ;
- ✓ Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques (Gandy et Buxerand, 2005).

II.1.1. Antibiotiques inhibent la synthèse de membrane

a) Polymyxines

Elles sont bactéricides mais diffusent mal dans les tissus. L'antibiotique le plus utilisé est la colistine, elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif tel que *Pseudomonas aeruginosa*. Elle reste cependant inactive sur les *Proteus*, *Providencia* et *Serratia* ainsi que les *Bacteroides*. La colistine n'est pas absorbée par voie digestive. En dehors des indications digestives, elle est administrée par voie parentale, sa toxicité est surtout rénale (Naciel et Vilde, 2005).

Le mécanisme d'action de cet antibiotique consiste en une fixation sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à Gram négatif) et les désorganisent spécialement les phospholipides membranaires; les membranes ne peuvent plus se remanier, se déforment et deviennent perméables (Duval et soussy, 1990).

b) Nitrofuranes

Ce sont des produits ayant un large spectre sauf sur *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter*. La nitrofurantoïne est utilisée exclusivement dans les infections urinaires.

D'autres molécules (nifuroxazide, nifurzide) ne sont pas absorbées et sont utilisées pour le traitement d'infections intestinales (Naciél et Vilde, 2005).

II.1.2. Antibiotiques agissent sur la synthèse du peptidoglycane

Le monde bactérien se distingue entre autre du monde animal et végétal par la présence d'une paroi d'un type particulier. Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes polysaccharides reliées par des peptides. Cet ensemble forme un maillage qui entoure la bactérie, lui conférant sa forme et sa rigidité. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme de la bactérie, poursuit dans la membrane cytoplasmique et se termine dans la paroi déjà formée. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane, dans ce cas l'équilibre entre ces phénomènes est rompue par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane et résultant une altération de la paroi bactérienne. Les β -lactamines, les glycopeptides et les fosfomycines sont les trois antibiotiques qui bloquent la phase finale de la polymérisation des peptidoglycanes (Naciél et Vilde, 2005 ; Gandy et Buxerand, 2005).

a) β -lactamines

Les β -lactamines ont en commun un noyau β -lactame (figure 01), présentent une analogie structurale avec la terminaison D-Ala-D-Ala du précurseur du peptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur les protéines membranaires, appelées les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui sont des enzymes impliquées dans la phase de la polymérisation des peptidoglycanes (Naciél et Vilde, 2005).

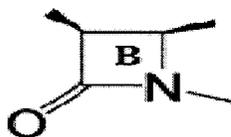


Figure 01: structure chimique de l'anneau de β -lactame (Cavallo *et al.*, 2004)

Les β -lactamines sont des composants importants, utilisés dans le traitement d'une variété des bactéries à Gram négatif et les infections des bactéries à Gram positif. Ces antibiotiques comprennent quatre groupes majeurs : les pénames (pénicillines) les pénèmes (carbapénèmes), les céphames (céphalosporines), et les monobactames (Poole, 2004).

Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la trans-péptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées PLP, sont insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne (Cavallo *et al.*, 2004).

➤ Pénames (Pénicillines)

La structure de base des pénicillines inclut un anneau de thiazolidine relié au cycle β -lactame auquel est attachée une chaîne latérale (figure 02). La pénicilline G (benzyl-pénicilline) est la seule pénicilline utilisée dans le domaine médicale. Les pénicillines semi synthétiques dérivent de l'acide 6-aminopenicillanique par l'addition des radicaux sur le carbone en position 6 (R_1). L'addition de ces radicaux modifie la susceptibilité des composés résultants aux enzymes d'inactivation (β -lactamases) et aux changements de l'activité antibactérienne (Cavallo *et al.*, 2004).

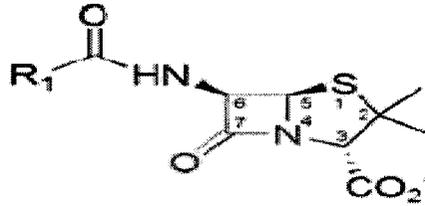


Figure 02: structure chimique de la Pénicilline (Essak, 2001)

- **Pénicillines naturelles (Pénicilline G)**

Ce sont les premières pénicillines découvertes, sont produites par *Penicillium notatum*. Ces antibiotiques sont actifs sur les cocci telles que *Streptococcus pyogenes* provoquant la pharyngite streptococcique à l'exception des staphylocoques, les anaérobies à l'exception de *Bacteroides fragilis*, les spirochètes. Par contre sont inactifs sur la plupart des bacilles à Gram négatif à l'exception de *Pasteurella multocida*. La plus part des pénicillines G (bipénicilline et extencilline) sont administrées par la voie parentérale (intramusculaire) puisque elles ne peuvent pas passer la barrière digestive, donc ne peut pas administrées par la voie buccale, sauf la pénicilline V (phenoxympenicilline) qui peut être administrée per os (voie orale) (Naciel et Vilde, 2005).

- **Pénicillines M (Antistaphylococquiques)**

Malgré une excellente activité initiale in vitro contre les staphylocoques, la fréquence très élevée des résistances acquises par production de pénicillinases a fortement limité l'intérêt de la pénicilline G et de ses dérivés pour le traitement des infections à staphylocoques. L'addition de nouvelles chaînes en position 6 au noyau péname a permis d'empêcher l'attachement des pénicillinases des staphylocoques et ainsi d'obtenir des pénicillines qui résistent à l'hydrolyse. Le premier produit obtenu, la diméthoxyl-benzyl-pénicilline (méthicilline) n'était administrable que par voie parentérale du fait d'une destruction rapide par les sucs gastriques, alors que les isoxazolyl-pénicillines comme l'oxacilline, la cloxacilline, la dicloxacilline et la flucloxacilline sont utilisables par voie orale. Cependant, ce sont des pénicillines à spectre étroit car, en dehors de *S. aureus* producteur de pénicillinase (plus de 90 % des *S. aureus*), ces produits ont une moindre activité intrinsèque que la pénicilline G (Essak, 2001 ; Cavallo *et al.*, 2004).

- **Pénicillines A (aminopénicillines de large spectre)**

Elles incluent l'ampicilline (la première pénicilline semi-synthétique avec l'activité contre les bactéries à Gram négatif) et l'amoxicilline et ont un spectre plus large que les autres antibiotiques. Elles sont toutes détruites par des β -lactamases et sont ainsi inefficaces. La plupart des aminopénicillines staphylococquiques sont bactéricides pour les bactéries à Gram positif et Gram négatif telles que *P. mirabilis*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, les salmonelles et les shigelles. Elles sont légèrement moins en activité que la pénicilline G contre les coques à Gram positif. La plupart des *Pseudomonas*, de *Klebsiella*, de *Serratia*, des *Acinetobacteriaceae* et des *Proteus* indole positifs sont également résistantes à ce groupe de pénicillines. La combinaison avec les inhibiteur de β -lactamases tel que, l'acide clavulanique et le sulbactame augmente nettement le spectre de l'activité de ces antibiotiques. Les aminopénicillines sont utiles dans les infections supérieures de région respiratoire (sinusites, média d'otites, exacerbations aiguës de la bronchite chronique, et époglottite) provoquées par des pyogènes de *S. pneumoniae* et *Hemophilus influenzae* (Naciel et Vilde, 2005).

- **Carboxy-pénicillines**

Les carboxypénicillines (carbénicilline, ticarcilline) sont des produits administrés par voie parentérale (inactifs per os) qui se différencient des amino-pénicillines par un spectre encore plus étendu sur les bacilles à Gram négatif, englobant en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, ou des entérobactéries comme les *Proteus* indole positif, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp* et *Citrobacter freundii*. Ces pénicillines ont un groupement carboxyle (COOH) sur la chaîne latérale en position C (6) de l'acide 6-amino-pénicillanique (Cavallo *et al.*, 2004 ; Gandy et Buxerand, 2005).

- **Acyl-amino-pénicillines (Uréidopénicillines)**

Ureidopenicilline tel que l'azlocilline, le mezlocilline, le pipérazine et la piperacilline, ont les groupes hétérocycliques substitués sur le groupe amine. Ceci augmente l'activité contre les bactéries à Gram négatif telle que *Pseudomonas aeruginosa* et les bactéries à Gram positif comme les *Streptococcus* sauf *S. pneumoniae* et les *Enterococcus faecalis* et *Leisteria monocytogenes*. Ces antibiotiques sont sensibles aux β -lactamases produites par les staphylocoques, mais se révèlent, en général, résistantes aux β -lactamases de type céphalosporinases. Les microorganismes qui sont résistants à l'ampicilline en raison de l'acquisition des β -lactamases également tendent à être résistants aux uréidopénicillines. Ils sont administrés par la voie parentérale (Essak, 2001 ; Gandy et Buxerand, 2005).

- **Amidinopénicillines**

Le pivmecilliname, ester oral de mecilliname, est la seule amidinopenicilline disponible. Ces antibiotiques diffèrent des autres pénicillines par la substitution d'une liaison méthylène en C (6) sur le noyau pénème, cette substitution les rend très actives sur certaines entérobactéries des voies urinaires avec une affinité particulière pour les PLP d'*E. coli*, mais peu actives sur l'ensemble des bactéries à Gram positif (Cavallo *et al.*, 2004).

- **Inhibiteurs de β -lactamases**

Des molécules ayant une structure de pénicilline, habituellement avec une activité minimale ou sans activité antibiotique. Ces groupes d'antibiotiques comprennent :

- ✓ Les pénicillines sulfones qui renferment la sulbactame et la tazobactame administrées en association avec des autres antibiotiques : sulbactame est combinée avec l'ampicilline ou céphalosporine telle que céfoperazone ;
- ✓ Les oxapénames qui comprennent l'acide clavulanique, ce type de β -lactamine est associée avec une autre β -lactamine comme l'amoxicilline ou la ticarcilline. Une fois la combinaison des inhibiteurs de β -lactamases avec certains antibiotiques augmente le pouvoir de ces dernières contre les β -lactamases produites par les bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* et divers entérobactéries (Cavallo *et al.*, 2004 ; Akova, 2008).

- **Pénèmes ou carbapénèmes**

Elles sont définies par un noyau pénème (figure 03) et dérivent de la thiénamycine, produites naturellement par *Streptomyces cattaleya*. Les carbapénèmes sont des β -lactamines possédant un très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des β -lactamases. Pour cette raison, ils font partie des antibiotiques utilisés en première ligne au cours du traitement probabiliste des infections nosocomiales sévères. Trois molécules sont

commercialisées : l'imipénème, le méropénème et l'értapénème et le doripénème est en voie de l'être (Wolffa *et al.*, 2009 ; Masterton, 2009).

Toutes les molécules sont actives *in vitro* sur les bactéries à Gram positif, sauf sur les staphylocoques résistants à la méticilline et les entérocoques. Seul l'imipénème conserve une certaine activité vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis*. Les entérobactéries sont très sensibles aux carbapénèmes, y compris les souches productrices de céphalosporinases de haut niveau. En général, les CMI de l'imipénème vis à vis des entérobactéries sont plus élevées que celles des trois autres molécules. En revanche, l'imipénème, le doripénème et le méropénème ont une activité comparable sur *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Les quatre molécules sont très actives sur l'ensemble des bactéries anaérobies à Gram positif ou à Gram négatif et, en association avec l'amikacine (Wolff *et al.*, 2009 ; Masterton, 2009).

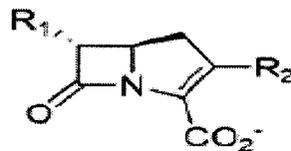


Figure 03: structure chimique de carbapénème (Wolff *et al.*, 2009)

➤ Céphames (Céphalosporines)

Les céphalosporines sont des produits hemisynthétiques, dérivés de la céphalosporine C, antibiotique naturel isolé de *Cephalosporidium*, toutes les dérivés ont un noyau commun sur lequel sont fixés deux radicaux R_1 et R_2 (figure 04). Ces antibiotiques présentent plusieurs avantages par rapport aux pénicillines : résistance aux pénicillinases et spectre d'activité plus large notamment vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. Les céphalosporines peuvent se diviser en première, deuxième, troisième et quatrième génération, en se basant sur la période de leurs découvertes et leurs propriétés antimicrobiennes. En général, la progression de la première et la quatrième génération est associée avec élargissement des spectres antibactériens sur les bactéries à Gram négatif, et avec certaine réduction d'activité contre les bactéries à Gram positif et la résistance augmentée aux β -lactamases (James et Rosso, 2004 ; El-Shaboury *et al.*, 2007).

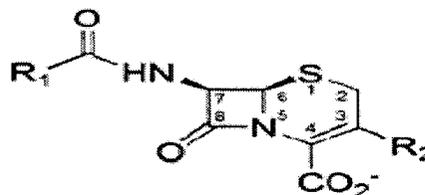


Figure 04: structure chimique de céphalosporine (Essak, 2001)

• Céphalosporines de première génération

Elles incluent la céphalotine, le céfazoline, le céphalexine, le céphradine et le céfadroxile. Ils ont la bonne activité contre les bactéries à Gram positif et l'activité relativement modeste contre les micro-organismes à Gram négatif. La plupart des anaérobies sont sensibles, mais le groupe *B. fragilis* est habituellement résistant. Ces antibiotiques ont une bonne activité contre *Moraxella catarrhalis*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, et *P. mirabilis*. La céphalotinen'est pas bien absorbée par voie orale, elle est disponible seulement pour l'administration parentérale. En raison de la douleur suivant l'injection intramusculaire, elle est habituellement donnée en intraveineuse.

La céphalotine a une demi-vie de 30-40 minutes, elle est métabolisée en plus de non excrétion (James et Rosso, 2004).

- **Céphalosporines de deuxième génération**

Les céphalosporines de seconde génération, y compris le céfamandole, la céfoxitine, le céfacleure, le céfuroxime, céfotetane et céfprozile, ont légèrement augmenté l'activité contre les entérobactéries telle que *Proteus* et *Klebsiella*, mais sont moins en activité que les agents de troisième-génération. Un sous-groupe d'agents de la deuxième génération comprenant le céfoxitine et un céfotetane ont une activité contre *B. fragilis*. D'une façon générale, sont inactives sur les germes fortement producteurs des β -lactamases telle que les *Pseudomonas* (Moulin et Coquerel, 2002 ; James et Rosso, 2004).

- **Céphalosporines de troisième génération**

Elles se distinguent par un accroissement important de leur spectre antimicrobien et leur stabilité à la pluparts des β -lactamases comme pénicillinase ou des céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Actinobacter baumannii*. Cependant, en cas d'hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique ou la production de β -lactamases à spectre élargi, ces céphalosporines sont inactives. Elles sont par ailleurs moins efficaces sur les cocci à Gram positif en particulier les staphylocoques que les céphalosporines de la première génération. Les principales molécules disponibles par voie parentérale sont le céfotaxime, la céftazidime et le céftizoxime. D'autres molécules sont utilisées par voie orale comme le céfixime, le céfpodoxime (Essak, 2001; Cavallo *et al.*, 2004).

- **Céphalosporines de quatrième génération**

Les dernières céphalosporines injectables de troisième génération commercialisées (la céfépime, lecéfpirome), appelés par certains « quatrième génération », présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *Pseudomonas aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporines hyperproduites (Cavallo *et al.*, 2004).

Le tableau V résume les différentes générations de céphalosporines et leur voie d'administration.

Tableau V : classification des céphalosporines en quarts générations (El-Shaboury *et al.*, 2007).

Voie d'administration	1 ^{ère} génération	2 ^{ème} génération	3 ^{ème} génération	4 ^{ème} génération
Voie orale	Céfalexine Céfradine Céfroxadine Céfadroxile	Céfaclor Céfprozil Céfuroxime-axetil	Céfpodoximepr oxetil Céfixime Céftibutene Céfdinire Céfetamete	
Voie parentérale	Céfaloridine Céfalothine Céfapirine Céfazoline	Céfamondole Céfotiame Céfuroxime Céfoxitine	Céfodizime Céfopezazone Céfotaxime Céfsulodine Céftazidime Céftiofure Céftizoxime	Céfépime Céfpirome Céfquinome

➤ Monobactames

Leur noyau se caractérise par la présence de noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle β -lactame (figure 05). L'aztréonam est le seul antibiotique de ce groupe, est une molécule administrée par la voie parentérale (en intramusculaire ou en intraveineuse), son activité sur les bacilles à Gram négatif telle que *Pseudomonas aeruginosa*, est comparable à celle des céphalosporines de troisième génération mais, elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies (Moulin et Coquerel, 2002 ; Cavallo *et al.*, 2004 ; Naciel et Vilde, 2005).

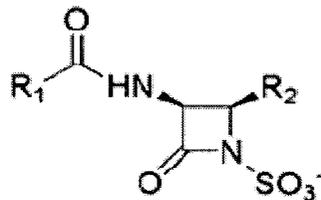


Figure 05: structure chimique de monobactame (Essak, 2001)

b) Glycopeptides

Ce sont des agents antimicrobiens basés sur leur teneur en peptides et en hydrate de carbone, constituent le groupe des antistaphylococciques héroïques-cette expression imagée résumant bien leur utilité. Les deux antibiotiques qui représentent commercialement cette famille sont la vancomycine et la teicoplanine (figure 06), ces antibiotiques ont une activité antibactérienne dirigée contre les bactéries à Gram positif, aéro-anaérobies facultatives comme les staphylocoques, streptocoques, *Entérocooccus* et *Listeria* et également les bactéries anaérobies strictes comme *Clostridium* et *Propionibacterium* (Moulin et Coquerel, 2002 ; Gandy et Buxerand, 2005).

Les glycopeptides sont des antibiotiques agissent principalement sur la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Ces molécules ont la capacité de diffuser dans le peptidoglycane et de se fixer sur le D-Ala-D-Ala du disaccharide pentapeptide fixé au lipide de transport et encore lié à la membrane cytoplasmique, ce qui entraîne l'empêche l'action d'une part des transpeptidases et transglycosydases (Gandy, 2005).

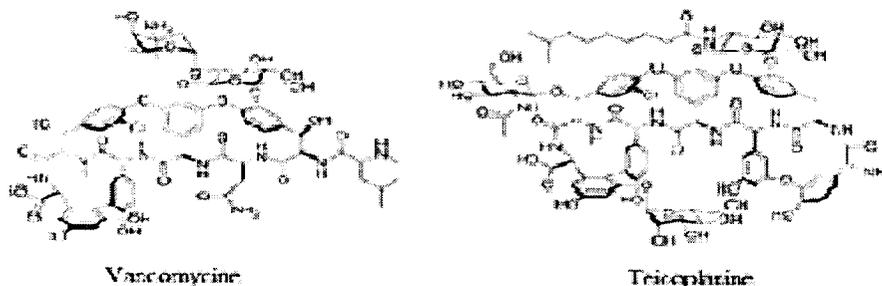


Figure 06: structure chimique des glycopéptides (Kanche *et al.*, 2005)

c) Fosfomycines (Antibiotiques phosphoniques)

La fosfomycine (ou fosfonomycine) ne présente aucune parenté de structure avec les autres antibiotiques (figure 07). C'est un dérivé d'acide phosphonique, un antibiotique original, produit initialement par les bactéries, notamment celles du *Streptomyces fradiae*, est un antibiotique bactéricide à large spectre qui agit en inhibant de la synthèse de la paroi des

bactéries sensibles (staphylocoques, *E. coli*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus mirabilis* et *Haemophilus*) (interférence avec la pyruvate-UDP-acétylglucosamine transférase) (Gandy et Buxerand, 2005).

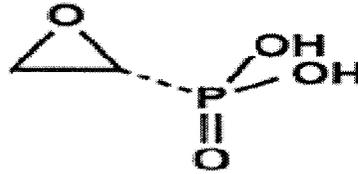


Figure 07: structure chimique de la fosfomycine (Kitouni, 2007)

Ces antibiotiques sont administrées par la voie orale et parentérale, en association, avec un autre antibiotique telle que céfotaxime, rifampicine et fluoroquinolone pour le traitement des infections à staphylocoques (méningites), avec vancomycine et teicoplanine pour traitement des endocardites et les septicémies et avec un aminoside pour le traitement les infections à *Serratia* (Moulin et Coquerel, 2002 ; Gandy et Buxerand, 2005).

II.1.3. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Les antibiotiques de cette catégorie les plus importants en médecine sont les aminosides, les tétracyclines, les phénicoles et les macrolides (Gandy et Buxerand, 2005).

a) Aminosides

Les aminosides sont une famille d'antibiotiques connue depuis 1944, année de la découverte de la streptomycine (figure 08). Ils sont principalement d'usage hospitalier, dans les infections sévères, et leur utilisation en ambulatoire devrait être exceptionnelle. Ils comprennent l'amikacine, la gentamicine, la kanamycine, la néomycine, la nétilmicine, la paromomycine et la tobramycine (Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999).

Ces antibiotiques sont bactériostatiques à faibles doses et bactéricides à fortes doses. L'effet majeur est la fixation irréversible sur le ribosome (fixation sur la sous-unité 30 S) entraînant l'inhibition de l'initiation, de l'élongation et de la terminaison, ce qui aboutit à la synthèse de protéines anormales (Eberlin, 1994).

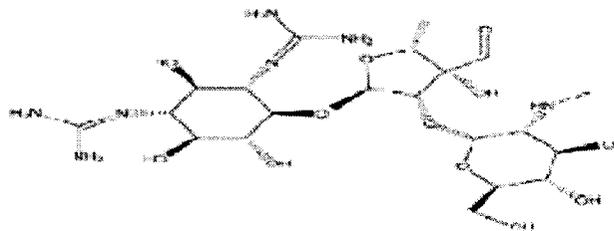


Figure 08 : structure chimique de la streptomycine (Ziadi, 2010)

Les aminosides possèdent un large spectre sur les bactéries à Gram positif et négatif (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*...), mais sont inactifs sur les pneumocoques les méningocoques, les tréponèmes, les *Bacteroides*, les *Clostridium*, les *Legionella*, le mycoplasme, les *Pseudomonas* et les bactéries des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* (Naciel et Vilde, 2005).

b) Tétracyclines

Les tétracyclines, ou plus simplement cyclines, possédant en commun un noyau naphtacène portant diverses substitutions oxygénées et azotées (figure 09). Ils figurent au nombre des premiers antibiotiques introduits en médecine puisque c'est en 1947 que fut découverte la chlortétracycline (AUREOMYCINE) dans le milieu fermentaire de *Streptomyces aureofaciens* isolé d'un échantillon de terre en provenance du Missouri, suivie de l'oxytétracycline en 1949. Les principales tétracyclines commercialisées sont la tétracycline (ABIOSAN, HEXACYCLINE), l'oxytétracycline (TARRAMYCINE), la doxycycline (VIBRAMYCINE, DOXYGRAM, GRANUDOXY) et la minocycline (MYNOCINE) (Brionet *al*, 1992 ; Adenot, 2000).

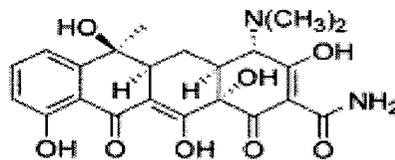


Figure 09: structure chimique de tetracycline (Kitouni, 2007)

Les tétracyclines ont une action essentiellement bactériostatique par inhibition de la synthèse protéique bactérienne : elles se lient à la sous unité 30 S des ribosomes bactériens et inhibent l'enzyme de liaison de l'aminocyl-t-ARN au ribosome (Moulin et Coquerel, 2002).

Elles ont un spectre large et sont efficaces contre : les *Chlamydiae*, les rickettsies, les *Vibriocholerae*, les *Brucella*, les *Treponema pallidum*, les *Pasteurella multocida*, et les *Yersinia...*, mais certaines bactéries sont toujours résistantes tels que : les Staphylocoques, les *Neisseria* et les entérobactéries. Chez les enfants de plus de sept ans et les adultes, les cyclines peuvent être administrés par voie buccale, par voie injectable et même locale (aérosols) (Zomahoun, 2005).

c) Phénicoles

Ce sont des antibiotiques à large spectre, à effet bactériostatique, doués d'une bonne diffusion, le représentant de ces antibiotiques est le chloramphénicol (figure 10) qui possède une activité essentielle sur le bacille typhique. C'est donc le médicament de choix dans les infections typhiques (typhoïde) et paratyphiques. Il traverse bien la barrière méningée quand celle-ci est enflammée d'où son emploi parfois dans certaines méningites (Khiati, 2004).

Ils se fixent sur la fraction 50 S de ribosome au niveau du site amino-acyl et inhibent l'élongation de la chaîne peptidique. Ils sont bactériostatiques ; à partir de l'année 1997 ils sont très peu employés car ils sont toxiques sur la moelle osseuse (Zomahoun, 2005).

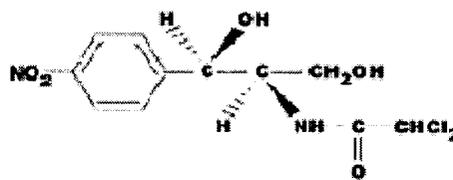


Figure 10: structure chimique de la Chloramphénicol (Kitouni, 2007)

d) Macrolides et apparentés

Cet ensemble d'antibiotiques réunit des produits avec un spectre antibactérien et un mécanisme d'action voisins, appartenant à trois types structuraux :

- ✓ Les macrolides possèdent un large noyau lactonique central de 12 à 16 chaînons sur lequel se greffent des sucres neutres ou aminés. Le cycle lactone est substitué par des groupements alkyles ou hydroxyles. Les principaux macrolides sont : l'érythromycine (figure 11), l'oléandomycine, la sporéamicine, la roxithromycine, la dirithromycine, la clarithromycine, la flurithromycine, l'azithromycine, la leucomycine, la josamycine, la spiramycine, la midécamycine, la rokitamycine et la miocamycine ;
- ✓ Les synergistines ou streptogramines, mélanges de deux groupes de produits à action antibactérienne synergique, à structure cycline s'apparentant à celle des macrolides. Les principaux streptogramines sont : la virginiamycine, la pristinamycine et l'association quinupristine et dalfopriline (figure 12) ;
- ✓ Les lincosamides à structure totalement différente, couplant un aminosucre et un acide aminé. Les principaux lincosamides sont : la lincomycine, la clindamycine et la pirlimycine (en cours de développement) (Brionet *al*, 1992 ; Zomahoun, 2005).

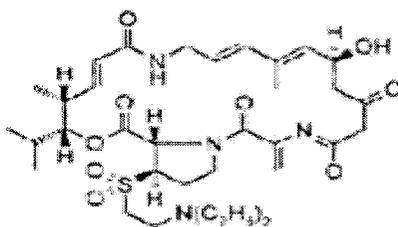


Figure 11 : structure chimique de l'érythromycine (Ziadi, 2010).

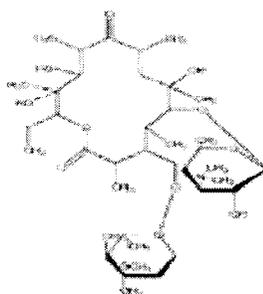


Figure 12: structure chimique de dalfopriline (Kitouni, 2007)

Ils sont bactériostatiques ou bactéricides selon leur concentration (les macrolides et les lincosamides sont bactériostatiques ; les synergistines sont bactéricides). Ils se fixent sur la sous-unité 50 S du ribosome et bloquent les réactions de transpeptidation et/ ou translocation. Ils atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes (Gandy et Buxerand, 2005).

Ces antibiotiques sont très utiles en pathologie pulmonaire où ils sont devenus les antibiotiques de première intention dans la plupart des infections pulmonaires. Donc leur intérêt est lié à ce type de pathologie, intérêt qui s'est encore accru depuis l'apparition d'infections à *Legionella* ; les macrolides se sont montrés efficaces contre cet agent pathogène dangereux et ont permis de limiter son extension (Eberlin, 1994).

Le spectre d'action de ces antibiotiques est résumé dans le tableau VI :

Tableau VI: spectre d'action des macrolides, lincosamides et streptogramines (Zomahoun, 2005).

	Macrolides	Lincosamides	streptogramines
Habituellement sensibles	Streptocoque pyogenes, Staphylocoque Méti-S, leptospires...	Staphylocoque, Streptocoque, <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i>	Bactéries à Gram positif, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Parfois sensibles	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Toxoplasma gondii</i>	pneumocoques	
Toujours résistants	Staphylocoques Méti-R, entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Gonocoques, méningocoques, <i>Haemophilus influenzae</i>	

e) Autres antibiotiques

➤ Oxazolidones

Il s'agit d'une nouvelle classe d'agents antibactériens découverte en 1987 qui se fixe sur la sous unité ribosomale 50 S et empêche sa liaison à la sous unité 30 S (empêche la formation du complexe d'initiation 70 S de la traduction). Il a une activité bactériostatique efficace contre les coques à Gram positif avec une activité minimale contre les bacilles Gram négatif. La première molécule commercialisée est linézolide (figure 13). Il est actif sur les bactéries à Gram positif (Charles et Stratton, 1997).

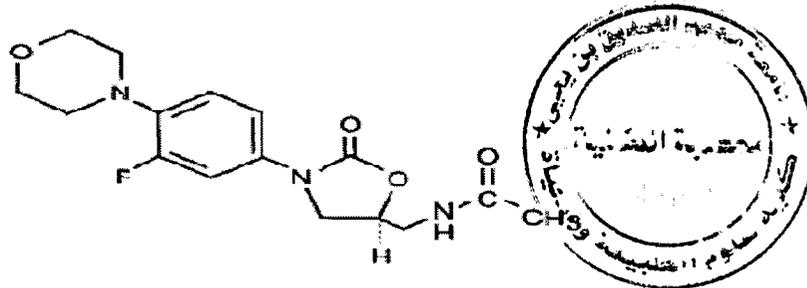


Figure 13: structure chimique de l'oxazolidone (linézolide) (Charles et Stratton, 1997)

➤ Acide fusidique

Le seul antibiotique stéroïde utilisé en thérapeutique, il est bactériostatique (peut être bactéricide à concentration plus élevée) et actif sur les Gram positif et les coques Gram négatif. Il est actif sur les *Staphylocoques* (anti-staphylococcique) producteurs de pénicillinases (Kezzal, 1993).

Il inhibe la synthèse des protéines en agissant sur le facteur G (substance responsable de la translocation de la chaîne des peptides durant la synthèse des protéines) ; ceci entraîne le blocage de la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous unité 50 S du ribosome (Zomahoun, 2005).

II.1.4. Antibiotiques inhibent la synthèse des acides nucléiques

a) Quinolones

Les quinolones ont une structure générale dérivant de l'acide dihydro 1,4 oxo 4 quinoline carboxylique (figure 14). La première molécule des quinolones est Negram (acide nalidixique). Depuis, plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques. Schématiquement on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes : les quinolones de première génération et les quinolones de deuxième génération (Gandy et Buxerand, 2005; Van Bambeke *et al.*, 2005).

✓ quinolones de première génération

Ils sont appelés aussi les quinolones classiques (urinaires). On retrouve dans ce groupe : l'acide nalidixique (Negram), l'acide oxolinique (Urotrate), l'acide pipemidique (Pipram), l'acide piromidique (Purim), rosoxacin (Eracine), fluméquine (Apurone) ;

✓ quinolones de deuxième génération

On retrouve dans le groupe les fluoroquinolones: ofloxacine (Oflocet), lémofoxacin, péfloxacine (Peflacine), norfloxacine (Noroxine), sparfloxacine (Zagam), ciprofloxacine (Ciflox), enoxacin (Mitscher, 2005).

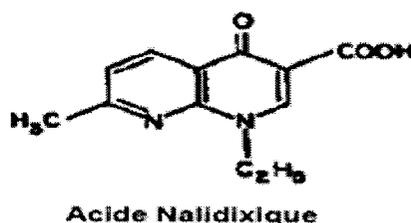


Figure 14: structure chimique d'acide Nalidixique (Mitscher, 2005)

Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien (Wang *et al.*, 2006).

Les quinolones de 1^{ère} génération ont approximativement le même spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif excepté *Pseudomonas sp.* Les fluoroquinolones ont un spectre élargi, on retrouve les bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif dont l'activité est 100 à 1000 fois plus élevée que celles des quinolones de 1^{ère} génération

(sauf *streptocoques* et *pneumocoques*), l'ofloxacine et la ciprofloxacine ont une activité sur *Mycobacterium tuberculosis* (Duval et soussy, 1990; Jacoby, 2005).

b) sulfamides

Ils se constituent d'un noyau para-aminobenzène-sulfonamide (PAB) avec un radical R déterminant. L'hémi synthèse a permis la production d'une centaine de molécules dérivées de la sulfanilamide, dont au total très peu ont un intérêt thérapeutique. Toutefois, par substitution sur le radical ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) (figure 15), plusieurs composés intéressants ont été obtenus ;

- ✓ **Sulfamides classiques** comme sulfapyridine (dagenan), sulfamérazine (solumedine), sulfafurazol (gantrisine) ;
- ✓ **Sulfamides urinaires** comme sulfamoxole (justamil), sulfaméthoxazole (gantanol), sulfaméthizol (rufol), sulfamérazine (solumedine) ;
- ✓ **Sulfamides à action intestinale** comme sulfaguanidine (guanidan), succinylsulfathiazol (thiacyl) ;
- ✓ **Sulfamides à usage local** comme sulfafurazol (gantrisine), sulfanilamide (tablamide), sulfacélamide (antebor) ;
- ✓ **Sulfamides semi retard** comme sulfaméthoxazole (gantanol), sulfamoxole (justamil) (Eberlin, 1994 ; Sköld, 2001).

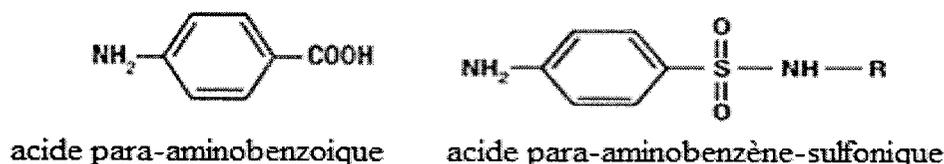


Figure 15 : structure chimique des sulfamides (Skold, 2001)

Les sulfamides ont une activité bactériostatique entrent en compétition avec le (PAB) bloquant ainsi l'action de la synthèse des acides foliques. Ils ont un large spectre d'action, on utilise les sulfamides pour des infections urinaires sévères, en cas de diarrhées non invasives ou pour éviter des rechutes suite à des rectocolites. Les souches sensibles à cet antibiotique sont les *Bacillus*, *Nocardia*, *Actinomyces*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus*, *Pasteurella* et *Vibrio cholerae* (Kezzal, 1993 ; Naciel et Vilde, 2005).

c) Rifamycines

C'est un bactéricide actif sur les germes en phase de multiplication et aussi sur les bacilles. Ces antibiotiques isolés à partir de *Streptomyces* méditerrané, ils sont constitués d'un macrocycle et d'un cycle aromatique. Le premier produit commercialisé fut la rifamycine SV qui dérive de la rifamycine B sécrétée par les *Streptomyces*. La structure chimique des rifamycines en fait un groupe d'antibiotiques très à part (Kezzal, 1993).

L'une des rifamycines (la rifamycine B) fournit, par hémi-synthèse, trois dérivés (figure 16) :

- ✓ la rifampicine : rifadine, rimactan, réservée au traitement de la tuberculose et aux affections à mycobactéries atypiques ou résistantes à la rifamycine ;
- ✓ la rifabutine : ansatipine, réservée également au traitement de la tuberculose (forme multirésistante) ou à la prévention des infections *Mycobacterium avium* ;
- ✓ la rifamycine SV : rifocine, rifamycine chibret (Moulin et Coquerel, 2002).

L'action antibactérienne conclue à une inhibition de la synthèse des protéines ils se fixent sur le complexe ARN-ADN-dépendant. Il a été démontré depuis que cet effet ne représentait pas l'effet primaire de ces antibiotiques qui, en réalité, inhibent la synthèse de l'ARN par blocage de la RNA- polymérase (Duval et soussy, 1990 ; Floss et Yu, 2005).

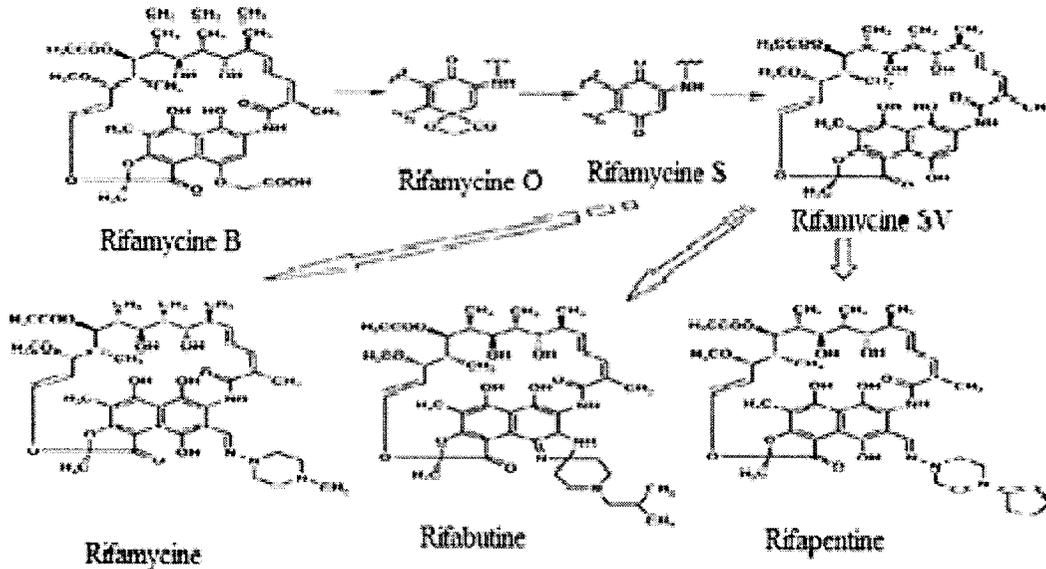


Figure 16: structure chimique de la rifamycine et la conversion en autres molécules (Floss et Yu 2005)

d) Nitroimidazoles

Dérivés synthétiques de la série des nitroimidazoles, ces produits utilisés jusqu'ici comme antiparasitaires. Le nitroimidazole exerce une activité bactéricide vis-à-vis des bactéries et microaérophiles, les bacilles à Gram positif, autre que les *Clostridium*, sont généralement peu sensibles. Cette dérivé est active sur les bactéries anaérobies, ils forment un complexe avec un brin d'ADN provoquant une coupure de ce dernier (Duval, 1990).



CHAPITRE III

III. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance microbienne aux antibiotiques est manifestée par des changements de perméabilité antibiotique, des modifications des molécules cibles, de dégradation enzymatique des antibiotiques, et de flux des antimicrobiens du cytosol. Les bactéries et d'autres micro-organismes emploient tous ces mécanismes pour éluder les effets toxiques des antibiotiques. La recherche récente sur les aspects moléculaires de ces mécanismes, souvent informés par les structures atomiques de résolution des protéines, des enzymes et des acides nucléiques impliqués dans ces processus, a approfondi notre compréhension d'action et de résistance antibiotiques et, dans plusieurs cas, a stimulé le développement des stratégies pour surmonter la résistance in vitro et in vivo (Wright, 2003).

III.1. Origine de la résistance

Il existe deux types de résistance aux antibiotiques : la résistance naturelle (ou intrinsèque) et la résistance acquise (Eberlin, 1994).

III.1.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détectée dès les premières études réalisées sur les antibiotiques afin de déterminer leur activité et contribuent à définir leur spectre d'activité. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif à la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente, d'origine chromosomique, stable et transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (Zomahoun, 2005).

La résistance naturelle est bien établie chez des espèces à Gram positif (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Nocardia asteroides*, *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium urealyticum* et *Bacillus cereus*) ou à Gram négatif de phénotype céphalosporinase (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) ou encore chez certains germes anaérobies stricts (*Clostridium difficile*, *Bacteroides* dont *Bacteroides fragilis*) (Hervé et al., 1998).

III.1.2. Résistance acquise

Les bactéries préalablement sensibles à certains antibiotiques, peuvent développer de la résistance vis-à-vis de ces derniers, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (Eberlin, 1994).

III.1.2.1. Résistance par mutation chromosomique

Ce phénomène spontané est rare et n'explique qu'une faible partie des résistances rencontrées en clinique. L'antibiotique n'induit pas la mutation mais si celle-ci survient l'antibiotique favorise la souche résistante qui est alors sélectionnée. La diffusion de ce type de résistance est liée à la diffusion de la souche mutante. Généralement, l'augmentation de la résistance se fait progressivement, par paliers. Cependant, on peut rencontrer des cas où une seule mutation chromosomique aboutit à une élévation très importante de résistance; par exemple, la CMI vis à vis de la streptomycine peut être multipliée par 1000 par une unique mutation chromosomique.

La fréquence d'apparition des mutations dépend en fonction de l'antibiotique. On observe les plus grandes fréquences de mutation pour la streptomycine et la rifampicine (Carle, 2009).

III.1.2.2. Résistance par acquisition de gènes

L'acquisition de gènes est le transfert horizontal de gènes de résistance de la bactérie donneuse à la bactérie réceptrice par conjugaison, transformation ou transduction (Bidault *et al.*, 2007).

- ✓ La conjugaison est le transfert de gènes de résistance d'un organisme résistant à un organisme sensible par le biais d'un canal protéique ;
- ✓ La transformation est l'acquisition de l'ADN bactérien nu se trouvant dans l'environnement par une bactérie réceptrice;
- ✓ La transduction est le transfert de gènes résistants par le biais d'un virus bactérien ou d'un bactériophage (Gowet *al.*, 2005).

La conjugaison est la méthode la plus importante de transfert horizontal de gènes car elle permet la dissémination d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les transposons ou les cassettes contenant des gènes et des intégrons. Ces éléments peuvent posséder des gènes de multirésistance et peuvent être responsables de la dissémination rapide de gènes parmi différentes bactéries. Il a été démontré que des groupes de gènes de résistance peuvent être associés sur un seul élément mobile s'unissent de façon à ce que des antibiotiques de classes différentes ou même des substances non antibiotiques (exemple : métaux lourds ou désinfectants) puissent sélectionner les bactéries résistantes aux antibiotiques. L'échange de gènes de résistance entre les agents pathogènes et les agents non pathogènes ou entre les bactéries Gram-positif et Gram-négatif a également été démontré (Gow *et al.*, 2005).

III.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont su développer des mécanismes divers et variés afin d'inhiber l'action des antibiotiques utilisés en thérapeutique. Les principaux mécanismes, généralement, élucidés sont l'inactivation enzymatique, la modification de la cible de l'antibiotique, la diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne et la mise en place ou la multiplication des systèmes d'efflux (Wright, 2003).

III.2.1. Inactivation enzymatique

La résistance enzymatique est universellement répandue au sein de très nombreux genres bactériens. Les β -lactamases constituent le mécanisme de résistance principal des bacilles Gram négatif (BGN), chez lesquels elles sont très diversifiées. Ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques ou transférables à des bacilles Gram négatif comme *Klebsiellapneumoniae* essentiellement, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobactersp.* Les gènes codant pour les β -lactamases ou ceux impliqués dans la régulation de leur expression peuvent être impliqués dans ce mécanisme de résistance enzymatique (Bonomo et Rice, 1999).

III.2.1.1. Enzymes inactivant les β -lactamines (β -lactamases)

Les β -lactamases sont la défense principale des bactéries Gram négatif contre les antibiotiques des β -lactamines. Ces enzymes capables d'inactiver et d'hydrolyser le pont amide du cycle de β -lactame pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (figure 17). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif. Les β -lactamases sont des enzymes mickaeliens. Il se produit donc un complexe

enzyme/substrat. Ainsi, l'action des enzymes sera fonction de : la constante d'affinité K_m , la vitesse d'hydrolyse exprimée par le V_{max} , la quantité d'enzyme libérée (Fischer *et al.*, 2005).

La figure 17, représente le schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.

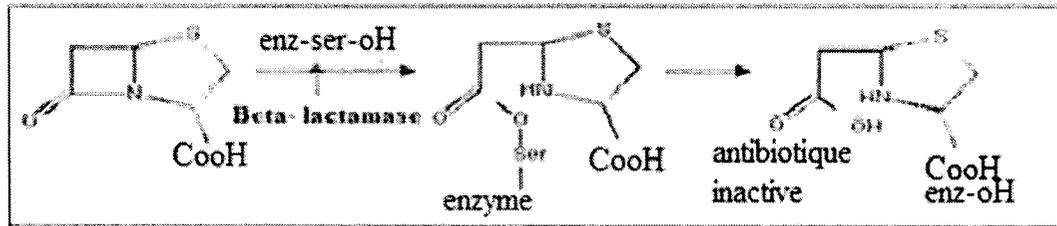


Figure 17 : schéma de la réaction d'hydrolyse du cycle β -lactame (Fisher *et al.*, 2007)

Les β -lactamases peuvent être divisées en 4 classes selon le schéma d'Ambler (tableau VII) : A, B, C et D. Les premières β -lactamases (pénicillines à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*) (Philippon et Arlet, 2006 ; Jacoby *et al.*, 2005).

➤ Classe A (β -lactamases à sérine)

Les enzymes de ce groupe sont des β -lactamases à sérine, cette classe regroupe les pénicillines et les céphalosporines qui sont inhibées par l'acide clavulanique (AC), inhibiteur des β -lactamases. Les enzymes de la classe A capables d'hydrolyser l'ampicilline, la ticarcilline et de manière moindre la céfalotine. Ils sont sans action sur les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), l'aztréonam, la céfoxitine et les carbapénèmes. Les enzymes sont principalement chromosomiques et certaines sont plasmidiques (Bonomo et Rice, 1999).

➤ Classe B (métallo- β -lactamases)

Les enzymes de cette classe sont des métallo-enzymes car ils sont dépendants de la présence d'ions zinc ou magnésium. Ils peuvent être inhibés *in vitro* en présence de chélateurs d'ions, mais l'acide clavulanique est inefficace. Ces enzymes confèrent la résistance à diverses β -lactamines telles que les pénicillines, avec une sensibilité variable de la piperacilline, des céphalosporines de 3^{ème} génération, les carbapénèmes «carbapénémases» ou encore des céphamycines. Seul l'aztréonam semble peu ou pas inactivé (Bebrone, 2007).

➤ Classe C (β -lactamases à sérine)

Les premières enzymes, rapportées, capables d'hydrolyser des céphalosporines appartiennent à cette classe, par conséquent les enzymes de la classe C désignés, généralement, sous le nom des céphalosporinases. La majorité d'enzymes de la classe C sont codés sur le chromosome et sont inductibles. Cependant, des enzymes plasmidiques ont été rapportés et quelques organisations peuvent produire des mutants issus d'une mutation induisant la production d'enzymes constitutives à haut niveau (Coleman, 2006).

➤ Classe D

Cette classe regroupe les β -lactamases appelées «oxacillines» ou OXA pour «OxacillinHydrolysingAbilities». En effet, elles sont caractérisées par leur taux d'hydrolyse pour la cloxacilline et l'oxacilline. Ces β -lactamases sont peu inhibées par l'acide clavulanique ou le

tazobactam. La majorité des OXA n'hydrolysent pas les céphalosporines à large spectre, leur action est différente de celle des BLSE. Certaines sont inhibées, *in vitro*, par les ions (Cl⁻) (Fischer *et al*, 2005).

Il y a une autre classification des β -lactamases est la classification de Bush-Jacoby-Medeiros appelée classification fonctionnelle (tableau VII), a été proposée en 1989 et remise à jour en 1995 est fondée sur les caractéristiques physicochimiques des enzymes comme leur point isoélectrique, poids moléculaire, profil de substrat et profil d'inhibition. Les BLSE appartiennent à la catégorie 2be et 2d de cette classification (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

- **Le groupe 1**, correspond à des céphalosporinases chromosomiques qui sont capables d'hydrolyser les carbenicillines et peu inhibées par l'acide clavulanique (Bush, 1989).
- **Le groupe 2**, est composé de pénicillinases, céphalosporinases, oxacillinases, et carbapénémases chromosomiques ou codées par des plasmides et en général inhibées par l'acide clavulanique. Ce groupe est sub-divisé en huit sous-groupes. En 1995, en raison de l'augmentation du nombre de dérivés de β -lactamases TEM et SHV, la classification initiale a été remise à jour et ces dérivés ont été classés dans des différents groupes possédant le préfixe « 2b » : les groupes 2be (β -lactamases à spectre étendu), 2br (β -lactamases dérivant du groupe 2b avec une affinité réduite pour l'acide clavulanique) et le groupe 2f (carbapénémases inhibées pas l'acide clavulanique et possédant un site actif à sérine) (Bush *et al*, 1995).
- **Le groupe 3**, correspond à des métallo-enzymes en général retrouvés chez les *Pseudomonas* sp, *Bacteroides* sp, et *Serratiamarcescens*, peu inhibés par l'acide clavulanique mais inhibés par l'EDTA *in vitro* ;
- Il existe enfin un quatrième groupe qui contient les pénicillinases peu communes non inhibés par l'acide clavulanique (Bush, 1989).

Le tableau VII donne les classes d'Ambler qui correspondent à chaque groupe de classification de Bush.

Tableau VII : représentants des différentes classe de β -lactamases selon la classification d'Ambler (Bush, 2009 ; Sundin *et al*, 2009).

Classification d'Ambler	Classification de Bush	Enzymes	Substrats préférés	Inhibiteurs		Organismes	Localisation
				AC	EDTA		
C	1	AmpC	Céphalosporines	-	-	Bacilles GN	Chromosome Plasmide
A	2a	PC1	Pénicillines	+	-	Bactéries GN	Plasmide
A	2b	TEM-1-2 SHV-1	Pénicillines Céphalosporines	+	-	Bacilles GN Cocci GP	Plasmide Chromosome
A D	2be	TEM, SHV, CTX-M-1-26 PER GES-1 OXY 1/2(K ₁) OXA-11,14,16, 17	Pénicillines, Céphalosporines large spectre et à spectre étendu	+ \pm -	- - -	Bacilles à Gram négatif <i>P. aeruginosa</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>K. oxytoca</i> <i>Acinetobacter</i> sp <i>aeruginosa</i> P.	Plasmide Chromosome Plasmide
A	2br	TEM. 30-36, TRC-1, SHV-49	Pénicillines	\pm	-	<i>E. Coli</i> K. <i>pneumoniae</i> (resistant aux inhibiteurs)	Plasmide
A	2c	PSE-1. 34 BRO-1-3	Pénicillines Carbénicillines	+	-	<i>P. aeruginosa</i> <i>A. baumannii</i> <i>M. catarrhalis</i>	Variables
A	2d	OXA-1-10 PSE-2	Pénicillines Cloxacillines	\pm	-	Entérobactériaceae <i>P. aeruginosa</i>	Variables
A	2e	CepA FPM-1 L ₂	Céphalosporines	+	-	<i>Bacteroides</i> sp <i>Proteus</i> sp <i>S. maltophilia</i> (inducible)	Variables
A D	2f	NMC-A, Sme-1-3, Imi-1-3 KPC-1.2 GES-2 OXA-24-26, 40, 51, 58, 72	Pénicillines Céphalosporines Carbapénèmes	+ \pm		<i>E. cloacea</i> <i>S. marcescens</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>A. baumannii</i>	Chromosome Plasmide Plasmide Chromosome
B	3	VIM, IMP. SPM, GI Li Ccr _A	Pénicillines Céphalosporines Carbapénèmes	-	+	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. species</i> , <i>Enterobacter</i> <i>S. maltophilia</i> <i>Bacteroides</i> sp	Variables

AC: acide clavulanique, EDTA: Ethylrène Diamine Tetraacetic Acid (chélateurs d'ions)

III.2.1.2. Enzymes inactivant les aminosides

Il s'agit d'enzymes constitutives, intracellulaires et plasmidiques, trouve chez les *Enterobacteriaceae*, *Enterococci*, *staphylococci*, *Enterococcusfaecium*, *Salmonella enterica* et *P. aeruginosa*. Il peut être classé les enzymes inactivant les aminosides en trois groupes en fonction des réactions qu'elles catalysent :

- ✓ Les aminosides phospho-transférases ou APH;
- ✓ Les aminosides adénylyl-transférases ou ANT;
- ✓ Les aminosides acétyl-transférases ou AAC (Wright, 2008).

Ce mode de résistance est un problème préoccupant, dans la mesure où il est codé par des plasmides lui assurant une propagation rapide, et on assiste ces dernières années à l'émergence de souches porteuses de différents enzymes d'inactivation. La sensibilité aux aminoglycosides est en constante évolution. Dans l'ensemble, elle évolue cependant plus lentement que la résistance aux β -lactames, sans doute en raison du pouvoir bactéricide élevé des aminoglycosides, de l'absence d'effet inducteur, et peut être également de l'usage plus modéré de ces molécules (Ramirez et Tolmasky, 2010).

III.2.1.3. Enzymes inactivant les phénicoles

Le mécanisme enzymatique principal est la production d'une chloramphénicol-acétyltransférase parfois associée, à la résistance à d'autres antibiotiques, elle est de type plasmidique, donc transférable, augurant de sa rapide diffusion parmi de nombreuses espèces bactériennes. Ces résistances sont régulièrement identifiées chez les entérobactéries, les *Haemophilus*, ainsi que chez les cocci à Gram positif et à Gram négatif (Coll et N. Engl, 1998).

III.2.1.4. Enzymes inactivant les macrolides et apparentées (MLS)

Les estérases et les phosphotransférases rapportées dans les entérobactéries confèrent une résistance à l'érythromycine et aux macrolides mais pas aux lincosamides. Jusqu'ici, ces résistances n'ont pas été considérées d'importance clinique majeure, parce que les entérobactéries ne sont pas des cibles pour les macrolides, indépendamment de l'utilisation particulière de l'érythromycine orale pour la décontamination sélective du tube digestif. Le plus inquiétant, est la détection des isolats cliniques de *S. aureus* producteurs de phosphotransférases codées par mph (C), bien que seulement quelques souches aient été rapportées. Les nucléotidyltransférases de lincosamides codées par lnu (A) (lina) et lnu (B) (linB) ; gènes des staphylocoques (*S. aureus* et les staphylocoques coagulase négative) et d'*Enterococcusfaecium*, respectivement, inactivent uniquement les lincosamides (Elipoulos, 2002).

III.2.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques par modification de la cible

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse affinité de l'antibiotique pour son site d'action (Carle, 2009).

III.2.2.1. Modification et altération de protéines liant les pénicillines (PLP)

Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram positif, comme le

Staphylococcus aureus et le *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il serait beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram négatif. Parmi les bactéries à Gram négatif, la résistance par altération des PLP s'observe chez les espèces du genre *Neisseria* et, plus rarement, chez *Haemophilus influenzae* (Carle, 2009).

Bien que la résistance aux pénicillines dans la *H. influenzae* soit principalement due à la production de β -lactamases, la résistance en l'absence de la production de β -lactamases a été rapportée, en particulier au Japon, où des mutations multiples ont été trouvées dans le gène *ftsI* codant PLP.

Les résistants d'*H. pylori* aux amoxicillines augmentent dans le monde entier. Des mutations dans le gène (*plp*) codant PLP₁ ont été liées à la résistance à l'amoxicilline dans cette bactérie ;

Une diminution d'affinité de PLP (résultant d'une modification de PLP) avec l'imipénème a été rapportée pour la résistante de *P. mirabilis* aux imipénèmes. Des rapports semblables ont été rédigés pour la résistance à l'imipénème dans l'*A. baumannii* et *P. aeruginosa*, bien que d'autres facteurs, y compris la perméabilité et l'efflux, soient susceptibles de contribuer à cette résistance (Lambert, 2005).

III.2.2.2. Modification des précurseurs du peptidoglycane

La cause la plus fréquente de la résistance aux glycopeptides dans l'*E. faecium* et l'*E. faecalis* est l'acquisition d'un des deux groupes de gènes «clusters», nommé Van A et Van B. Ces gènes codent les enzymes produisant un précurseur de peptidoglycane modifié qui se termine par D-Ala-D-Lac au lieu de D-Ala-D-Ala, ce qui induit une diminution accrue de l'affinité des glycopeptides avec la D-Ala-D-Lac. La faible affinité des glycopeptides avec D-Ala-D-Lac résulte de la modification de la liaison hydrogène intermoléculaire responsable d'une affinité entre l'antibiotique et le substrat. L'interaction entre le substrat et le glycopeptide est un processus complexe coopératif comportant la dimérisation et la modification de la conformation du glycopeptide (Lambert, 2005).

III.2.2.3. Modification des ribosomes

La caractéristique de distinction des macrolides, des lincosamides, et des aminoglycosides est leur interaction avec une sous-unité ribosomale déstabilisant la synthèse de la protéine. La résistance aux macrolides et aux lincosamides résulte de la méthylation du résidu adénine-2058 de la sous-unité 23 S de l'ARN ribosomale, qui est trouvé dans la grande sous-unité 50 S du ribosome. Les aminoglycosides lient aux emplacements spécifiques sur la résistance ribosomale de la petite sous-unité 30 S. La résistance aux ces antibiotiques peut être due aux mutations dans la protéine 12 S qui changent l'affinité pour l'antibiotique (Silva, 1996).

III.2.2.4. Modification de l'ADN topoisomérase et de l'ADN gyrase

La résistance aux fluoroquinolones peut résulter des mutations chromosomiques dans les enzymes cibles de l'ADN gyrase et de l'ADN topoisomérase IV. Les modifications dans les sous-unités Gyr A ou Gyr B de l'ADN gyrase sont détectées le plus souvent chez les bactéries à Gram négatif résistantes aux fluoroquinolones. Les mutations de la sous-unité Gyr A se produisent dans la région déterminante de la résistance aux quinolones du gène *gyrA*, codant la partie de la sous-unité de Gyr A qui se lie à l'ADN pendant l'activité enzymatique. Les mutations les plus communes dans cette région causent la résistance par la diminution de l'affinité de l'antibiotique pour le complexe ADN-gyrase (Lambert, 2005).

Les mutations de *gyrB* sont, généralement, moins fréquentes que les mutations de *gyrA*. Elles se regroupent dans un domaine analogue à la région déterminante de la résistance aux

de Gyr B produisent des niveaux plus bas de résistance que des mutations de gyr A. Les modifications de la topoisomérase IV dues aux mutations dans Par C ou Par E qui sont produites, également, par les bactéries à Gram négatif mais semblent être moins importantes (Lambert, 2005).

III.2.2.5. Modification de l'ARN polymérase

La résistance aux rifamycines résulte habituellement de mutations portant sur la chaîne de l'ARN polymérase. La fréquence de ces mutations est élevée, c'est pourquoi il est déconseillé d'utiliser cette famille d'antibiotiques en monothérapie (Khairy et Loum, 2005).

III.2.2.6. Modification des enzymes impliquées dans la synthèse des folates

Une modification de la dihydroptéroate synthétase (enzyme bifonctionnelle empêche la formation de dihydroptéroate à partir de son dérivé pyrophosphate) résistant à la liaison avec les sulfamides et de la dihydroptéroate réductase insensible au triméthoprime entraîne également une résistance. La résistance des bactéries à Gram négatif envers les sulfamides est attribuable aux plasmides générant des enzymes résistantes (Carle, 2009).

III.2.3. Modification de la perméabilité membranaire

Le mécanisme de résistance par diminution de la perméabilité n'est présent que chez les bactéries à Gram négatif, car elles possèdent une membrane externe. Cette membrane de nature hydrophobe permet le passage des molécules hydrophiles par les porines, protéines transmembranaires formées par des trimères dont les monomères sont de véritables canaux aqueux. Le diamètre moyen d'un pore est d'environ de 1 à 1,2 nm. Des modifications de la quantité absolue ou de l'état fonctionnel de ces porines ont pour conséquence une diminution de la diffusion des antibiotiques empruntant cette voie de pénétration. Ce mécanisme par diminution de perméabilité peut entraîner une résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques (Pagès et Garnotel, 2003).

Plusieurs espèces présentent un mécanisme de résistance par modification de perméabilité membranaire, notamment celle de *Pseudomonas aeruginosa* dont la perméabilité aux céphalosporines est réduite d'environ deux ordres de grandeur en comparaison à celle d'*E.coli*. De plus, la pénétration des antibiotiques à travers les canaux membranaires est grandement influencée par l'hydrophobicité de la molécule, plutôt que par son poids moléculaire. Dans les cas d'*Enterobacter cloacae* et d'*Enterobacter aerogenes*, la résistance est causée par une réduction de la perméabilité membranaire, due à une perte de porines. Il est donc évident qu'un certain niveau de résistance intrinsèque, quoique non spécifique, soit observé chez ces souches bactériennes. Certaines souches exploitent plusieurs moyens afin d'augmenter leur niveau de résistance : un isolat clinique de *Klebsiella pneumoniae* identifié comme étant résistant à certaines β -lactamines par une β -lactamase à large spectre et par élimination d'une porine associée à sa membrane externe (De Wals, 2007).

III.2.4. Mécanisme d'efflux

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. Sous l'effet de mutations, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple fluoroquinolones et β -lactamines). Le phénomène a été décrit surtout chez les bactéries à Gram négatif. La résistance à la tétracycline est due le plus souvent à l'acquisition d'un gène responsable d'un mécanisme d'efflux (Khairy et Loum, 2005).

Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe. Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont de type RND comme AcrB chez *Escherichia coli* ou MexB chez *Pseudomonas aeruginosa* (Cattoir, 2004).

La figure 18, représente les cinq familles de pompes d'efflux chez *E. coli*, et autres bactéries.

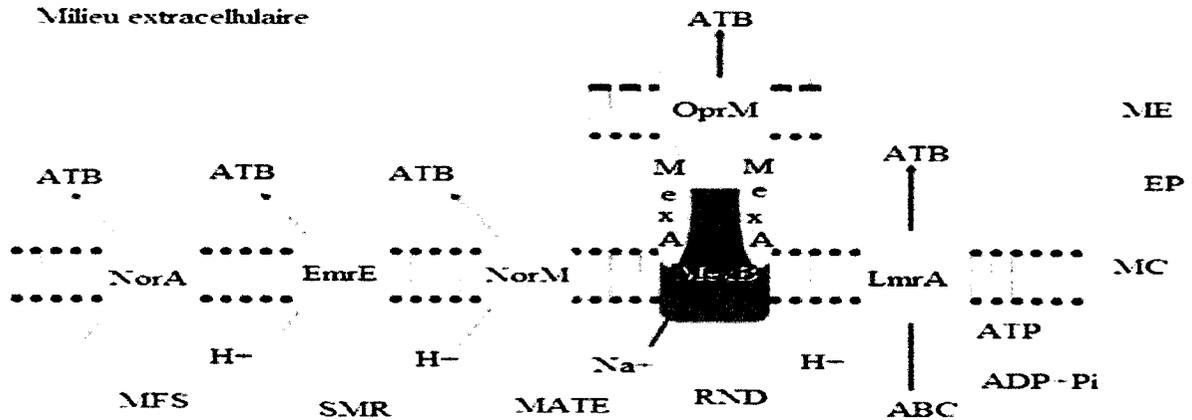


Figure 18 : représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux. MFS « major facilitator superfamily » (ex. NorA chez *Staphylococcus aureus*); SMR ou « small multi drug resistance » (ex. EmrE chez *Escherichia coli*); MATE ou « multi drug and toxic compound extrusion » (ex. NorM chez *Vibrioparahaemolyticus*); RND ou « resistance-nodulation cell division » (ex. MexB chez *Pseudomonas aeruginosa*) avec MexA (membrane fusion protein) et OprM (outer membrane factor); ABC ou ATP-binding cassette (ex. LmrA chez *Lactococcus lactis*). ME, EP : membrane externe et espace périplasmique des bactéries à Gram négatif ; MC : membrane cytoplasmique ; ATB : antibiotique substrat (Cattoir, 2004).

IV. Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques

IV.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est un test rapide basé sur la méthode de diffusion de l'agent antimicrobien sur milieu gélosé. Il a été principalement développé pour la bactériologie médicale et permet de définir à quels antibiotiques est sensible une souche bactérienne isolée d'un patient. Ce test peut également être utilisé pour effectuer un profil de résistance face à divers antibiotiques des souches isolées de l'environnement. Donc il est utilisé pour déterminer *in vitro* le profil de résistance de différentes souches bactériennes (Corvaglia, 2006).

L'antibiogramme d'une souche peut être déterminé en utilisant le test de Kirby et Bauer (1966). Cette technique est basée sur le principe de diffusion où des disques, imprégnés d'un antibiotique à concentration spécifique, sont étalés sur une gélose (Mueller Hinton) inoculée à partir d'une suspension cellulaire à tester. Suite à l'incubation des échantillons, le diamètre d'inhibition de croissance observé peut déterminer le niveau de résistance d'une souche bactérienne à l'antibiotique en question (Archambaud, 2000).

L'interprétation se fait aujourd'hui avec des systèmes experts qui suivent les recommandations de comités d'antibiogramme. Le choix des antibiotiques testés a beaucoup évolué en conséquence de ces connaissances. L'impact médical est de plusieurs ordres : impact immédiat (traitement du malade concerné et alerte à la résistance), impact différé (traitements empiriques), collectif (surveillance de la résistance) (Marcel, 2005).

IV.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

CMI la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures d'incubation à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. Plusieurs méthodes sont à la disposition du laboratoire. On différencie;

- ✓ les techniques en milieu liquide (en tube, en microplaque);
- ✓ la technique en milieu solide gélosé (E-test) (Gennèet Siegrist, 2003).

➤ Méthodes en milieu liquide

Une solution mère d'antibiotique est diluée. Le diluant est le bouillon de Mueller-Hinton. L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 24 heures en milieu liquide (Poilane *et al.*, 2007).

➤ Macro méthode

Reporter dans une série de tubes stériles 1 ml de chaque dilution de l'antibiotique. Ajouter dans tous les tubes le même volume d'inoculum. Incuber 24 heures à la température optimale de la souche à tester. Observer les tubes après incubation : la CMI sera la concentration en antibiotique la plus faible pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. En fait, elle est comprise entre le tube correspondant à cette définition et le premier tube dans lequel une croissance est observée (Poilane *et al.*, 2007).

➤ Microméthode

Des microplaques à fond en U (plaque à microtitration) sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque 96 puits permet la détermination de la CMI de huit antibiotiques vis-à-vis de la même souche. Dans les cupules d'une même ligne, les dilutions de l'antibiotique et la souche sont introduits à l'aide d'une pipette automatique. Incuber 24 h à la température optimale de la souche.Éventuel trouble dans chaque cupule ou un dépôt au fond de la cupule indique une croissance de la bactérie testée. La CMI correspond à la concentration de la cupule ne présentant pas de croissance (Corvaglia, 2006).

➤ Méthode en milieu gélosé

C'est la méthode la plus précise car elle donne une valeur vraie de la CMI. Elle est connue sous le nom commercial d'Etest. Elle est cependant rarement utilisée en routine à cause de son coût élevé. Une bandelette est imprégnée de quantités croissantes d'antibiotiques. Elle est placée sur une gélose pour l'antibiogramme ensemencée classiquement ; l'antibiotique diffuse en formant un gradient important : la zone d'inhibition à la forme d'une ellipse et la lecture est alors directe sur la bandelette là où celle-ci rencontre la zone d'inhibition (Gennèet Siegrist, 2003).

IV.3. Concentration minimale bactéricide(CMB)

On appelle concentration minimale bactéricide ou CMB la plus faible concentration d'antibiotique capable de détruire 99,99 % des bactéries après 18 à 24 h d'incubation dans un milieu de croissance spécifique en laissant donc un pourcentage de bactéries vivant < 0,01% de l'inoculum du départ (Eberlin, 1994).

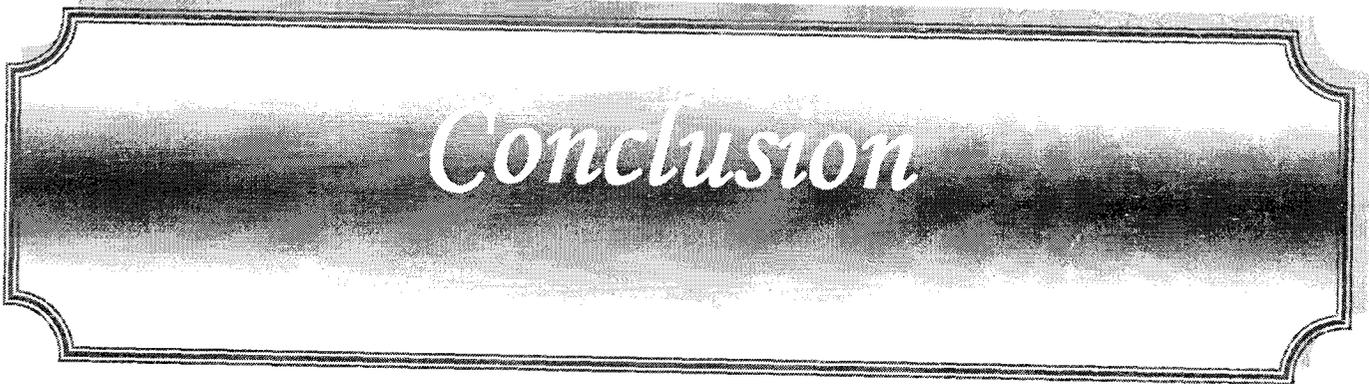
Pour déterminer la CMB, on réalise 24h plus tôt, un témoin de bactéricide en ensemencant en strie sur une gélose en boîte de Pétri, les dilutions 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum de départ, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. Après la lecture de la CMI, on effectue des repiquages en strie, sur une gélose neuve, des tubes sans

croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubés à 37 °C et 24 h après, on compare les stries au témoin de bactéricide. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de germes (Bolou *et al.*, 2010).

V. Evolution de la résistance aux antibiotiques

L'évolution de la résistance aux antibiotiques constitue un élément essentiel du problème de l'utilisation intensive en médecine humaine et vétérinaire de ces molécules. Parmi ces antibiotiques, ceux de la famille des β -lactamines, produites naturellement par des champignons, sont les plus largement prescrits. Pour les bacilles à Gram négatif, le mécanisme principal de cette résistance est lié à la production d'enzyme de type β -lactamase. Une forte pression de sélection, favorisant les espèces productrices de ces β -lactamases est exercée par le rejet important de grandes quantités d'antibiotiques dans l'environnement et par la pollution des eaux par des entérobactéries commensales de l'homme. Ces souches peuvent donc acquérir des gènes de résistance par l'intermédiaire de plasmide ou d'intégrons, provenant de bactéries de l'environnement naturellement résistantes à ces antibiotiques grâce à la présence d'un gène de résistance en position chromosomique (Gautier-Lerestif *et al.*, 2003).

Depuis l'utilisation successive des différents antibiotiques en thérapeutique, la sensibilité des bactéries à ces antibiotiques a beaucoup évolué et ce de façon différente selon les espèces bactériennes, les antibiotiques et le milieu humain considéré (en milieu hospitalier, les taux de résistances sont très élevés). Parmi ces bactéries, ce sont les Staphylocoques surtout, les bacilles à Gram négatif notamment les Entérobactéries, le *Pseudomonas aeruginosa* et l'*Acinetobacter* qui paraissent les plus concernés par cette évolution de résistance. Par contre d'autres bactéries telles que les Streptocoques, les Pneumocoques, les bactéries à Gram positif se montrent sensibles à une bonne partie des antibiotiques. Les familles d'antibiotiques les plus touchées sont les β -lactamines, les Tétracyclines, les Sulfamides et le Chloramphénicol. L'évolution de la résistance aux antibiotiques est favorisée par leur utilisation souvent excessive et inappropriée qui exerce une pression de sélection de souches résistantes (Kanta, 2007).



Conclusion

Conclusion

Les bacilles à Gram négatif sont des facteurs de pathologie humaine et animale. Ils occupent une place très importante dans les différents domaines, spécialement dans le domaine médical. Ce type de bactéries cause des maladies infectieuses très dangereuses (infection urinaire, gastro-entérite...) mais la découverte des antibiotiques permet de réduire le taux de mortalité causé par ces maladies. Ces bactéries à Gram négatif sont capables de résister aux différents antibiotiques par plusieurs mécanismes à savoir, la capacité de synthèse des enzymes inactivant les antibiotiques par exemple, les β -lactamases qui sont actives sur la famille des β -lactamines, la modification de la cible et le mécanisme d'efflux qui est rencontré surtout chez *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces mécanismes sont trouvés chez les bacilles à Gram négatif soit naturellement (chromosome) ou par l'acquisition du gène responsable de ce mécanisme (mutation génétique). La solution aux problèmes des résistances aux antibiotiques tient donc dans une sorte d'alliage entre les recherches technologiques et la prise de conscience de la nécessité d'une utilisation correcte de ces antibiotiques tant de la part des patients que des médecins. Enfin, pour que cette prise de conscience soit la plus efficace et la plus rapide possible, il est nécessaire que les pouvoirs politiques, si possible au niveau international, agissent sans tarder.

Referencias bibliográficas

Références bibliographiques

- **Adenot M.** (2000). Initiation à la chimie médicinale, Les voies de la découverte des médicaments. Ed. Ellipses Edition Marketing S. A. Paris : 87-90.
- **Akova M.** (2004). Sulbactam-containing β -lactamase inhibitor combinations. *Journal of Clinical Microbial Infection*, **14**(Suppl.1): 185-188.
- **Archambaud M.** (2000). Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques. *Réanimation Médicale*, **1** : 1-10.
- **Avril J. L., Dabernat H., Danis F et Monteil H.** (1992). Bactériologie clinique. Ed. Copyright (2^{ème} édition), Paris : 150-310-371
- **Aumaitre H., Lecaillon E., Ollivier S et Bouchaud O.** (2004). Diarrhées bactériennes, Bacterial diarrhoeas. *Emcchi-chirurgie*, **1** : 437-454.
- **Bebrone C.** (2007). Metallo β -lactamases (classification, activity, genetic, organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochemical Pharmacology*, **74**:1686-1701.
- **Bolou G. E. K., Attioua B., N'Gessan A. C., Coulibaly A., N'Gessan J. D. et Djaman A. J.** (2010). Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. Sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*, **80** : 772-790.
- **Bonomo R. A., Rice L. B.** (1999). Inhibitor resistant class A β -lactamases. *Frontiers in Bioscience*, **4** : 34-41.
- **Brion J.D., Buxeraud J., Castel J., Couquelet J., Cussac M., Debaert M., Fournier J.P., Fulcrand P., Huet J., Lacroix R., Laronze J. Y., Lebaut G., Loiseau P., Loppinet V., Paris J., Plat M., Poisson J et Tronche P.** (1992) Médicaments antibiotiques. Ed. TEC et DOC, Lavoisier Paris. **2** : 227-355.
- **Brenner D.J. Kreiy N. R. Staley J.T et Garrity M. G.** (2005). *Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology*. **2** (A).
- **Bush k.** (1989). Classification of β -lactamases : groupes 2c, 2d, 2^e, 3 et and 4. *Antimicrobs Agents Chemother*, **33** (30) : 271-276.
- **Bidault P. Chandad F. et Grenier D.** (2007). Risques de résistance bactérienne liée à l'antibiothérapie systemique en parodontie. *JADC*. **73** (8) : 721-725.
- **Bush K., Jacoby G. et Medeiros A. A.** (1995). A functional classification Scheme for β -lactamase and the correlation with molecular structure. *American society for microbiology*. **39** (6) :1211-1233.
- **Bush K.** (2009). The Importance of β -lactamases to the development of new β -lactams. *Humana Press*:135-144.
- **Carle S.** (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, **42** (2) : 6-21.
- **Caruso D.** (2009). La pathologie en pisciculture tropicale et l'approche écopathologique : méthodologie et étude de cas sur les élevages de pangasiidae. *CahAgric*, **18**(2-3) : 242-248.
- **Cattoir V.** (2004). Pompes d'efflux aux antibiotiques chez les bactéries, Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria. *Pathologie Biologie*, **52** : 607-616.

- **Cavallo J. D., Fabre R., Jehl F., Rapp C et GarrabéE.** (2004). Bêta-lactamines, Beta-lactam antibiotics. Journal d'EMC- Maladies infectieuses. **1** : 129-202.
- **CharlesW et Stratton M. D.** (1997). Oxazolidinone: A New class of Antimicrobial Agents. Antimicrobics and InfectiousDiseasesNewsletter, **16** (9) : 69.
- **Chandad F., Bidault P etGrenier D.** (2007). Risques de résistance bactérienne liée à l'antibiothérapie systémique en parodontie. J Can DantAssoc (JADC),**73** (8) : 721-725.
- **Coleman K.**(2006). Extending the life of β -lactam antibiotics: New β -lactamases inhibitors. Drug DiscoveryTodayTherapeutic Strategies,**3** (2): 183-189.
- **Coll G et N.Engl J. M.** (1998). Les phénicoles. Repère médical, **339**:868-874.
- **CorvagliaA. R.** (2006). Rôle des résidus d'antibiotiques dans les environnements hydriques sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres *Aeromonas*, *Acinetobacter* et *Legionella*, thèse présentée à la faculté des sciences de l'université de Genève pour obtenir la grade de docteur sciences, mention biologique : 50.
- **DelarrasC.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle. Ed. Lavoisier (TEC et DOC) Paris : 254-255-256-257-258.
- **de Oliveira Scoaris D., Bizerra F. C., Yamada-Ogatta S. F., De AbreuFilho B. A., Ueda-Nakamura T., Nakamura C. V et Dias FilhoB. P.** (2008). The occurrence of *Aeromonassp.* in the bottled mineral water, well water and tap water from the municipal supplies. Brazilian archives of biology and technologyan international journal, **51** (5): 1049-1055.
- **De Wals P. Y.** (2007). Analyses mutationnelles et cinétiques de la β -lactamase TEM-1 d'*Escherichia coli*, Vers une meilleure compréhension du phénomène de résistance aux antibiotiques. Thèse pour vue de l'obtention du grade de *M.Sc.* en biochimie, Université de Montréal : 14.
- **Duval J et Soussy C. J.** (1990). Antibiothérapie. Ed.Entièrement refondue, Masson, Paris : 119-143-150-151.
- **Eberlin T.** (1994). Les Antibiotiques. Ed. Nathan, Paris : 11-12-21-38-86-88.
- **Elipoulos G. M.** (2002). Mechanism of resistance to macrolides and lincosamides, nature of the resistance elements and their clinical implications. The Infectious Diseases society of America, **34**: 482-492.
- **El-Shaboury S. R., Salah G. A., Mohamed F. A ET Rageh A. H.** (2007). Analysis of cephalosporin antibiotics. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, **45**: 1-19.
- **Essack S.Y.** (2001).The development of β -Lactam antibiotics in response to the evolution of β -Lactamase. Journal of Pharmaceutical Research, **18** (10) :1391-1399
- **Essid N., Mhmoudi E., Boufahja F., Dellali M., Beyrem H et Aissa P.** (2007). Impact des Pseudo-Fèces de Moules sur les densités des bactéries hétérotrophes dans le secteur mytilicole de la lagune de Bizerte (Tunisie). Revue des sciences de l'eau, **20**(4) : 383-392.

- **Fischer J.F., Meroueh S. O et Mobashery S.** (2005). Bacterial resistance to β -lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. American chemical society, **105**: 395-424.
- **Floss H. G et Weinyu E.** (2005). Rifamycine mode d'action, de resistance, et de biosynthèse. American Chemical Society, **105**: 621-632.
- **Gandy C., Buxerand J.** (2005). Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. Ed. Elsevier SAS. Paris: 14-18-19-37-41-216-218-219-236-273.
- **Gautier-Lerestif A. L., Desbordes L., Gaillot O et Avril J. L.** (2003). Le diagnostic, le traitement et la prévention des pasteurelloses humaines. Laboratoire de bactériologie-virologie, **61**(1) : 15-21.
- **Gennè D et Siegrist H. H.** (2003). De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. Forum Med Suisse, **20** : 464-468.
- **Gow S., B.Sc., DMV.** (2005). La résistance antimicrobienne, l'usage judicieux des agents antimicrobiens et le programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA). L'Association Canadienne des Médecins Vétérinaires (CVMA), **5** (7) : 1-6.
- **Hart T et Shears P.** (1997). Atlas de poche de microbiologie, Ed. Médecine science Flammarion, Paris: 71-73-80-81-82-153.
- **Hervé S., Blanchard et Philippon A.** (1998). Céphalosporines orales en 1998. Médecine Thérapeutique-Pédiatrie, **1** (1) : 80-88.
- **James Q et Del Rosso D.** (2004). Cephalosporins in Dermatology. Disamonth, **50**: 315-331.
- **Jacoby G.A.** (2005). Mechanisms of Resistance to Quinolones Clinical infectious Diseases **41**(2): 120-126.
- **Jacoby G. A et Munoz-Price. L-S.** (2005). The new β -lactamases. The New England Journal of Medicine, **352** : 380-391.
- **Kahne D. Leimkuhler C. Lu W. and Walsh C.** (2005). Glycopeptide and Lipoglycopeptide Antibiotics. Chemical Reviews. **105** (20) : 425-448 .
- **Kanta Seydou M.** (2007). Antibiothérapie dans le service de pédiatrie. Thèse pour obtenir le Grade de docteur en PHARMACIE (DIPLOME D'ETA), Université de Bamako : 26.
- **Khairy N. A. O et Loum E.** (2005). Les entérobactéries sécrétrices de β -Lactamases à spectre élargi. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie (Diplôme d'état), Université Cheikh Anta Diop de Dakar : 29-30.
- **Kezzal K.** (1993). Les antibiotiques. Ed : office des publications universitaires : 19-21.
- **Khiati M.** (2004). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. Ed. Office des publications universitaires, Paris : 224-225.

- **Kitouni M.** (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse en vue de l'obtention du Diplôme de : Doctorat d'Etat en microbiologie, Algérie (Université Mentouri-Constantine) : 48, 50, 55.
- **Lambert P. A.** (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites Journal of Advanced Drug Delivery Reviews, **57**: 1471-1485.
- **Larpent J. P.** (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Ed. Technique et Documentation, Paris: 60-87.
- **Larpent J. P et Gourgaud. M. L.** (1997). Mémento technique de microbiologie. Ed. TEC et DOC, Paris: 300-322-324-325-328-331-357-369-389.
- **Leclere H., Gaillard J. I et SimonetM.** (1995). Microbiologie générale. Ed. Doin Editeurs, Paris : 405-429.
- **Madigan M et MartinkoJ.** (2007). Brock Biologie des micro-organismes. Ed.pearson Education,France : 354.
- **Marcel J. P.** (2005). L'antibiotique et son impact medical. Elsevier SAS. **07** (01).1-10.
- **Masterton R. G.** (2009). The new treatment parading and the role of carbapenems. International journal of antimicrobial Agents, **33**: 1-105.
- **Mingeot-Leclercq M. P., Glupczynski YetTulkens P. M.** (1999). Aminoglycosides: Activity and Resistance. American Society for Microbiology, **43** (04): 727-737.
- **Mitscher L. A.** (2005).Bacterial Topoisomerase inhibitors: quinolone andpyridone antibacterial agents. American chemical society, **105** :559-560.
- **Monteil H et Harf-Monteil C.** (2002). *Pseudomonas* et apparentées. Elsevier, Paris. **343** : 31-40.
- **Moulin M et Coquerel A.** (2002). Pharmacologie. 2^{ème} éd. Masson, Paris : 163-191.
- **Nanciel C et Vilde J. L.** (2005). Bactériologie Médicale. Ed. Masson, Paris :49-157.
- **Pagès J. M et Garnotel E.** (2003). Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif. Revue Française des Laboratoires, **352**: 57-63.
- **Philippon A et Arlet G.**(2006). β -lactamases de bacilles à Gram négatif: le mouvement perpétuel. Ann Biologie clinique, **64** (01): 37-51.
- **Poilanel., Bert F., CruandP., Nicolas-chanoine M. H et Collignon A.** (2007). Evaluation de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé pour le dépistage de souches de *Clostridiumdifficile* de sensibilité diminuée aux antibiotiques. Pathologie Biologie, **55**: 429-433.
- **Poole K.** (2004). Resistance to β -lactams antibiotics. CMLS cellular and Molecular Life Sciences, **61**: 2200-2223.
- **Prescott L. M., Harley J. P et Klein D. A.** (2003). Microbiologie. Ed. Bocek et Larcier, Paris:481-482-504-507.

- **Ramirez M.S., Tolmasky M.** (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Biochemical Pharmacology*, **13**: 151-171.
- **Rodriguez-Villalobos H et Struelens M. J.** (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur (Extended spectrum β -lactamases mediated bacterial resistance: Implications for the intensivist). *Réanimation*, **15** : 205-213.
- **Sengupta Sand Chattopadhyay M. K.** (2012). Antibiotic Resistance of Bacteria: A Global Challenge. 176-191.
- **Silva J.** (1996). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Current Therapeutic Research*, **57** (A) : 30-35.
- **Skold O.** (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides (mechanismes of resistance to antibiotics in animal and zoonotic pathogens). *INRA, EDP Sciences*, **32** (3-4) : 261.
- **Sundin D. R., Ph D., D(ABMM), Department of Laboratories, Spectrum Health, Grand Rapids, Michigan.** (2009). Hidden β -lactamases in the *Enterobacteriaceae*-dropping the Extra Disks for Detection. *Clinical Microbiology New letter*, **31** (6): 41-44.
- **Van Bambeke F., Michot J.M., Eldere V. J et Tulkens P. M.** (2005). Quinolones in 2005: an update. *Chemical Microbiology Infectious*, **11**: 256-280.
- **Wang Y., Yu K., Wang S.** (2006). Vibrational spectra study on quinolones antibiotics. *Spectrochimica Acta*. **65** : 159-163
- **Wolff M., Joly-Guillou M. L et Pajot O.** (2009). Les carbapénèmes. *Journal de Réanimation*, **18**: 5199-5208.
- **Wright G. D.** (2003). Mechanisms of resistance to antibiotics. *Current Opinion in Chemical Biology*. **7** :563-569.
- **Wright G. D.** (2008). Mechanisms of aminoglycoside Antibiotics. In *Bacterial Resistance to Antimicrobials*. Prepared by **Wax R. G., Lewis K., Salyers A. A et Taber H.** CRC Press Taylor and Francis Group :71-102.
- **Ziadi H.** (2010). Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique. Thèse en vue de l'obtention du grade de maitre en sciences pharmaceutiques option chimie médicinale, Université de Montréal: 1-2 4.
- **Zomahoun Carène Irédé Nadia Prisca.** (2005). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie, Diplôme d'Etat, Université de Mali :31, 32.

A decorative rectangular frame with rounded corners and a double-line border. The word "Annexe" is written in a white, elegant cursive script across the center of the frame. The background of the frame has a dark, textured, halftone-like pattern.

Annexe

Annexe**Mac Conkey**

Peptone.....	20,0 g
Lactose.....	10,0 g
Sel biliaires.....	1,5 g
Cristal violet.....	0,001 g
Rouge neutre.....	0,05 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
pH.....	7,1

Gélose de Drigalski

Peptone.....	15,0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Lactose.....	15,0 g
Désoxycholate de sodium.....	1,0 g
Cristal violet.....	0,005 g
Bleu de bromothymol.....	0,080 g
Thiosulfate de sodium.....	1,0 g
Agar.....	11,0 g
pH.....	7,4

Gélose de BCYE

extrait de levure :.....	10,0 g
Chlorhydrate de L-cystéine:.....	0,4 g
alpha-cétoglutarate:.....	1,0 g
Pyrophosphate de fer III :.....	0,25 g
Tampon ACES/ hydroxyde :.....	10,0 g
Charbon activé:.....	2,0 g
Agar :.....	13,0 g

Agar sélectif de BCYE avec PAC

Agar de BCYE.....	38,65 g
-------------------	---------

Polymyxine.....	80,0 UI
Anisomycine.....	80,0 mg
Céphalomandole.....	4,0 mg

Agar sélectif de BCYE avec GVPC

Extrait autolytique de levure	10,0 g
Charbon actif	2,0 g
α -cétoglutarate, sel monopotassique	1,0 g
ACES (2-[2-amino-oxoéthyl)-amino] éthanesulfonique).....	10,0 g
Hydroxyde de potassium.....	2,8 g
L-cystéine, chlorhydrate	0,4 g
Pyrophosphate ferrique	0,25 g
Glycine	3,0 g
Vancomycine.....	1,0 mg
Polymyxine B.....	80000 UI
Cycloheximide	80,0 mg
Agar agar bactériologique	12,0 g
pH.....	6,9 \pm 0,1

Gélose TSA

Peptone de caseine.....	17,0 g / l
Peptone de farine de soja.....	3,0 g/l
D-glucose.....	2,5 g/l
Chlorure de sodium.....	5,0 g/l
Phosphate di- potassique.....	2,5 g/l
Eau.....	1000 ml

Gélose Hektoen

Protéase-peptone.....	12,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose.....	12,0 g
Salicine.....	2,0 g

Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5 g
Sels billiaires.....	9,0 g
Fuchsine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymol.....	0,065 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Agar.....	14,0 g
pH.....	7,6

Bouillon Lactosé

Extrait de viande de Bœuf.....	3,0 g/l
Peptone.....	5,0 g/l
Lactose.....	5,0 g/l
Eau permutée.....	1000ml

Gélose TCBS

Peptone.....	10 g/l
Extrait de levure.....	5 g/l
Citrate de sodium.....	10 g/l
Thiosulfate de sodium.....	10 g/l
Chlorure de sodium.....	10 g/l
Bile de bœuf.....	8 g/l
Citrate ferrique.....	1g/l
Saccharose.....	10g/l
Bleu de bromothymol.....	0,04 g/l
Bleu de thymol.....	0,04 g/l
Agar.....	14 g/l
pH.....	8,6

Gélose DCLS

Peptone.....	10 g/l
Extrait de viande.....	5,0 g/l

Extrait de levure.....	1,0 g/l
Lactose.....	10,0 g/l
Saccharose.....	12,0 g/l
Hydrogénophosphate de sodium.....	1,0 g/l
Dihydrogénophosphate de potssium.....	0,6 g/l
Vert brillant.....	0,005 g/l
Rouge de phénol.....	0,090 g/l
Agar.....	15 g/l
pH.....	6,9

Gélose chocolat polyvitamines

Peptone trypsine de caséine.....	7,5 g/l
Peptone pepsine de viande.....	7,5 g/l
Amidon de maïs.....	1 g/l
Hydrogénophosphate de potassium.....	4 g/l
Dihydrogénophosphate de potassium	1,0 g/l
NaCl.....	5,0 g/l
Hémoglobine.....	10,0 g/l
Supplément glucose, vitamine.....	10,0 ml
Agar.....	15,0 g/l
pH.....	7,2

Agar cystéine heart

Extrait de cœur de bœuf.....	10,0 g/l
Peptone de protéase.....	10,0 g/l
Dextrose.....	10,0 g/l
Chlorure de sodium.....	5,0 g/l
L-cystéine.....	1,0 g/l
Agar.....	15,0 g/l

Gélose de Wilkins

Tryptone.....	10,0 g/1
Peptone de Gélatine.....	10,0 g/1
Extrait de levure.....	5,0 g/1
Glucose.....	1,0 g/1
Chlorure de sodium.....	5,0 g/1
L-arginine.....	1,0 g/1
Pyruvate de sodium.....	1,0 g / 1
Menadione.....	0,0005 g / 1
Hemine.....	0,005 g / 1
Agar.....	10,0 g / 1
pH.....	7,1±0,2

Résumé

Les bacilles à Gram négatif sont des germes responsables de pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ce caractère des infections à bacilles Gram négatif est dû en grande partie, au pouvoir toxique de ces agents infectieux et à leur grande capacité de résistance aux antibiotiques. Cette gravité impose pour praticien outre une maîtrise parfaite de la physiopathologie des infections à bacilles Gram négatif, une connaissance précise et sans cesse actualisée de l'évolution de la sensibilité de ces germes dans son environnement de travail. La capacité de résistance à l'antibiotique chez les bacilles à Gram négatif reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique malgré toutes les études sur ce problème. Donc ce cas les praticiennes restent sur la recherche et l'étude des nouveaux mécanismes de résistance des bacilles à Gram négatif avec ce développement de la résistance a conduit à l'élaboration d'antibiotiques et est devenu abondant et en grand nombre et tout cela afin de préserver la santé humaine

Mots clés : les bacilles à Gram négatif, Antibiotiques, Résistance aux antibiotiques.

Abstract

The bacilli with negative Gram are germs responsible for varied, frequent and sometimes frightening pathologies. This character of the infections with negative Gram bacilli is due mainly, with the toxic capacity of these infectious agents and with their great capacity of resistance to antibiotics. This gravity imposes for expert in addition to a perfect control of the physiopathology of the infections on negative Gram bacilli, a precise and unceasingly brought up to date knowledge evolution of the sensitivity of these germs in its environment of work. The capacity of resistance to antibiotic at the bacilli with negative Gram remains today a major problem of public health despite everything the studies on this problem. Thus this case the experts remains research on this problem and study the new mechanisms of resistance of the bacilli to negative Gram with this development of resistance led to making of antibiotics and became abundant and in great number and all that in order to preserve human health.

Keywords: Gram negative bacilli, Antibiotics, Resistance of antibiotics.

المخلص

البكتيريا العصوية سالبة الغرام تعتبر من أهم الكائنات الدقيقة المسؤولة عدة أمراض مختلفة قد تكون في بعض الأحيان خطيرة و معدية و هذا لامتلاكها القدرة على مقاومة المضادات الحيوية بعدة اليات، و هذا ما دفع بالباحثين و المختصين الى القيام بعدة دراسات و ابحاث لمعرفة الفيزيولوجية المرضية لهذه الكائنات والتوصل الى طريقة مثلى لتحديد المضادات الحيوية المناسبة. رغم الامكانيات والجهود المسخرة من طرف المختصين للحد من خطر العصويات سالبة الغرام الا أن استمرار خطرها لا يزال الى يومنا و هذا راجع الى قدرتها على تحسين مختلف اليات المقاومة لديها.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا سالبة الغرام، المضادات الحيوية، مقاومة المضادات الحيوية.