الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي- جيجل

Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie Appliquée et des Sciences Alimentaires

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : Microorganismes et pathogénécité

Thème

Effet de phtalocyanine de zinc sur la résistance des bactéries responsables d'infections urinaires

Membre de Jury :

- **Présidente : M^m^ Benhamada. W**
- **Examinatrice : M^m^ Boussouf**
- **Encadreur : Dr Roula Sagia**

Présenté Par :

- **Meghouache Siham**
- **Guemraoui Amira**

Année universitaire 2016-2017

N° D'ordre :.....

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements à « Allah » Le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Mes remerciements s'adressent d'abord, à mon directeur de mémoire, Madame le Dr Moussaoui Sagia. Nous la remercions pour son encadrement, sa patience, sa sympathie, son soutien, ses encouragements et pour sa rigueur scientifique au quotidien durant cette année.

Nous exprimons notre gratitude à l'ensemble des membres du jury présents ce jour : Mme Benhamada et Mme Boussouf.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au médecin Ahmed Bekioua de nous avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour la recherche. Merci pour les biologistes Mme Imen Laoura et Mme Karima Bekioua sans lesquelles ce travail n'aurait pu être réalisé.

Nous remercions aussi tous nos collègues, enseignants et ingénieurs, de l'université Mohammed seddik ben yahia.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A celle qui ma donné la vie, mes chères parents ***Youcef*** *et* ***Massaouda*** *qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite durent tout ces années.*

A mes tendres sœurs surtout ***«Dodo»*** *et mes chers frères pour leur bienveillance, leur patience et leur amour inconditionnel.*

A mes très chère amis, ***Meriem, Hamida, Wafa, Bachira, Rabiha, yassmine*** *et aussi beaucoup d'autre personnes que je n'ai pas l'occasion de les mentionner.*

A mes cousines, mes collèges et toute ma famille.

A ma petite fleur ***AYA.***

Siham

Dédicace

Je dédie ce travail à mon très cher papa « Yahia » qui a été et sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse et de sacrifices à la mémoire de ma mère « Nouara ».

A mes chers sœurs/frères Wassim, Assia et Widad pour toute l'affection qu'ils m'ont donné et pour leurs encouragements.

Pour mes très chères amies : Hanane, Nada, Sabrina, karima, Soumia, Ahlem, Yassine, je ne vous remercierai jamais assez pour vos encouragements. Aussi beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner.

Amira

Remerciement

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les infections urinaires

I.1. définition de l'infection urinaire 02

I.2. L'appareil urinaire 02

I.3. Physiopathologie 03

I.4. Les cause de l'infection urinaire 03

I.5. Les signes cliniques 04

I .6. Epidémiologie 04

I .7. Les principaux germes responsables des infections urinaires 04

I.8. Mécanisme d'action des uropathogènes 05

I.9. Antibiothérapie 05

I .10. L'évolution de la résistance des uropathogènes 06

I.12. Les stratégies thérapeutiques 06

Chapitre II : la photosensibilisation

II.1. Historique 07

II.2. Définition de la photosensibilisation..... 07

II.3. Les photosensibilisateurs..... 08

II .4. Les types des photosensibilisateurs 08

II.5. Le phtalocyanine 08

II.6. Les métallophtalocyanines..... 09

II.7. La thérapie photodynamique 10

II.8. Mécanisme de la thérapie 10

II .9. Mécanismes d'éradication tumorale 11

II.10. Les applications cliniques de la thérapie photodynamique 11

II.11.Définition du mécanisme d'inactivation microbienne par la photosensibilisation..... 11
II.12.Mécanisme d'action fondamentale en thérapie photodynamique 11
II.13.Voie d'extraction moléculaire 11
II.14. Réaction photodynamique 12
II.15. Les agents antimicrobiens photosensibilisants..... 13

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthode

Objectif de travail 15
IV.1. Matériels de l'étude 15
IV. 1. 1. Les souches bactériennes 15
IV. 1.2. Les milieux de culture 15
IV. 1.3. Les produits chimique, réactifs et tampons utilisés 15
IV. 1. 4. appareils du laboratoire 15
IV.1. 5. Les antibiotiques testés 16
IV.2. Méthode de travail 16
IV. 2. 1. Recueil des urines (prélèvement) 16
IV. 2. 2. Examen cytobactériologique urinaire (ECBU) 16
IV.2. 3. Ensemencement et incubation 17
IV.2. 4. Identification des germes 17
IV.2. 4. 1. Préparation des cartes identification 17
IV.2. 4. 2. Préparation des cartes d'antibiogramme..... 18
IV.2. 4. 3. remplissage et chargement des cartes dans le VITEK 2® compact 18
IV.2. 4. 4. Accés à l'application V2C 18
IV. 3. Les tests réalisés 18
IV. 3. 1. La revivification et contrôle de la pureté des souches 18
IV. 3. 2. Etude de sensibilité aux antibiotiques 19
IV. 3. 2. 1. Technique d'antibiogramme standard en milieu gélosé 19
IV. 3. 2. 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) 19
IV. 3. 2. 2. A. Le protocole standard de la CMI : Préparation de la suspension bactérienne.... 19
IV. 3. 2. 3. L'antibiogramme automatique 20
IV. 4. Etude de l'effet de la photosensibilisation 20
IV. 4. 1. Préparation des dilutions 20
IV. 4. 2. Préparation des suspensions bactériennes 20

IV. 4. 3. Ensemencement 20
IV. 5. Test de diffusion sur gélose..... 21

Chapitre V : Résultats et discussion

V. 1. La fréquence d'infection urinaire selon le sexe et l'âge 22
V. 2. L'examen bactériologie..... 23
V. 2. 1. Examen direct 23
V. 2. 1. 1. Leucocyturie..... 23
V. 2. 1. 2. Bactériurie..... 24
V. 2. 2. Examen indirecte 24
V.3. Les résultats de la sensibilité des souches aux antibiotiques 25
V. 3. 1. Tests de sensibilités avant photosensibilisation..... 25
V. 3. 1. 1. Test de diffusion sur gélose..... 25
V. 3. 1. 2. Test antibiogramme automatisé 26
V. 3. 1. 2. A. Résultat d'antibiogramme pour *E. coli* 26
V. 3. 1. 2. B. Résultats de l'antibiogramme pour *K. pneumoniae* 28
V. 3. 1. 2. C. Résultats de l'ntibiogramme pour *Enterobacter cloacae*..... 29
V. 3. 1. 2. D. Résultats de l'antibiogramme pour les staphylocoques 30
V. 3. 2. Test de sensibilité après photosensibilisation 32
V. 3. 2. 1. Test de diffusion en milieu gélosé 32
V. 3. 2. 1. Résultats du test d'antibiogramme automatisé..... 32
V. 3. 2. 1. A. L'antibiogramme des Entérobactéries étudiées 32
V. 3. 2. 1. B. L'antibiogramme des Staphylocoques 36

Conclusion 40
Références bibliographiques 41

Liste des annexes

Liste des tableaux

Tableau	*Titre*	*Page*
Tableau I	numération de leucocyturie urinaire	25
Tableau II	Résultats des diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme	27
Tableau III	Résultat d'antibiogramme automatisé d'*E. coli.*	28
Tableau IV	résultat d'antibiogramme automatisé de *K. pneumoniae* (K_5)	29
Tableau V	Résultat d'antibiogramme automatisé de la souche *Enterobacter cloacae.*	30
Tableau VI	Résultat d'antibiogramme automatisé des souches de staphylocoque.résultat d'antibiogramme automatisé des souches de staphylocoque	31
Tableau VII	Charges des disques testés et les diamètres de la zone d'inhibition de certaines souches étudiées.	33
Tableau VIII	L'antibiogramme d'*E.coli* (E_3), *E. cloacae* et *K. pneumoniae* après photosensibilisation	33
Tableau IX	L'antibiogramme des souches de staphylocoque après la photosensibilisation.	37

Liste des figures

Figure	*Titre*	*Page*
Figure 01	Schéma des composants de l'appareil urinaire	03
Figure 02	fréquence des infections urinaires	04
Figure 03	Répartition des germes responsables d'IU	05
Figure 04	Représentation de la structure chimique de ZnPc	09
Figure 05	Représentation de la structure chimique de MPc	09
Figure 06	représentation schématique du principe de la PDT	10
Figure 07	les différences étapes de la photosensibilisation	13
Figure 08	Structure chimique de certains agents antimicrobiens	14
Figure 09	Schéma des différentes étapes examen cytobactériologique des urines	17
Figure 10	Irradiation des boites de Pétri par la lumière rouge pendant 2h	22
Figure 11	Teste de diffusion sur gélose	23
Figure 12	Répartition des patients ayant contracté une IU selon le sexe	24
Figure 13	Répartition d'IU en fonction des tranches d'âge des patients	24
Figure 14	Cristaux de phosphate amoniacomaghésiens et de oxalate de calcium sous microscope optique	26
Figure 15	Fréquence des germes isolés	27
Figure 16	Résultats des CMI d'*E. coli* avant et après photosensibilisation	35
Figure 17	la CMI de *K. pneumoniae* avant et après photosensibilisation	35
Figure 18	la CMI de *Staphylococcus saprophyticus* avant et après photosensibilisation	38
Figure 19	la CMI de *Staphylococcus lentus* avant et après photosensibilisation	39

Liste d'abréviations

µg : Microgramme

$^1O_2$: Oxygene singulet

$^3O_2$: triplet d'oxygène moléculaire

3PS* : photosensibilisateur exicté un état triple

AMC : amoxicilline / acide clavulanique :

AMI : Amikacine

AMP : Ampicilline

ARN : l'acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

BMR : Bactérie Multirésistante

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CAZ : ceftazidime

CFT : céfalotine

CIP : ciprofloxacine

CM : clindamycine

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CTX : Céfotaxime

ECBU: Examen cytobactériologique des urines

EDTA : l'acide éthylènediaminetétraacétique

EM : érythromycine

ERT : Ertapénème

FD : acide fusidique

FOS : fosfomycine

FOX : Céfoxitine

GEN : Gentamicine

I : intermédiaire

IPM : Imipénème

ITU : infections du tractus urinaire

IU : infection urinaire

K: kanamycine

MB : bleu méthylène

ml : Millilitre

Liste d'abréviations

mm : Millimètre

MPcs : méthallophtalocyanines

NAL : acide nalidixique

NAL : Acide nalidixique

NIT : Nitrofurantoine

OFX : Ofloxacine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Oxa : oxacilline

Pc : phtalocyanine

PDI : l'inactivation photodynamique des micro-organismes

PDT a : PDT antimicrobienne

PDT : La thérapie photodynamique

PG : Benzylpénicilline

PIP : pipéracilline

PMBN: peptide polycationique polymyxine B nonapeptide

PS : photosensibilisateurs

PS* : photosensibilisateur exicté

R : résistant

RIF : rifampicine.

ROS : RADICAUX LIBRES

S : sensible

SFM : Société Française de Microbiologie

TB : bleu toluidine

TEC : téicoplanine

TET : tétracycline

TIC : ticarcilline

TMP : triméthoprime

TOB: tobramycine

VA : vancomycine

ZnPc : phtalocyanine de zinc

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les infections causées par des microbes résistants aux antibiotiques sont souvent exceptionnellement difficiles à traiter en raison de la gamme limitée d'options thérapeutiques (Nicolle, 2011).Dans le traitement des infections urinaires (IU), l'usage intensif et souvent abusif des antibiotiques tels que les fluoroquinolones et les céphalo-sporines de troisième génération a été rapidement suivi par l'apparition de souches multi résistantes.

Les IU sont essentiellement dues aux entérobactéries dont le chef de fil est *Escherichia coli* qui constitue une priorité en matière de surveillance et d'étude de résistance aux antibiotiques étant donné sa fréquence élevée et sa gravité (Arsalane *et al.* 2014).Les souches multi résistantes restent aujourd'hui un problème majeur de santé publique. Au vu de ce problème, la thérapie photodynamique (TPD) pourrait être une option thérapeutique intéressante pour le traitement des IU (Wain wright *et al.* 2010).

D'après certaines études, les biologistes se sont rendu compte que des molécules photosensibles comme la phtalocyanine de zinc (ZnPc) associées à la lumière pouvaient constituer un outil thérapeutique efficace dans le traitement IU. Ils ont, en cela ouvert la voie à un nouveau type de traitement fondé sur l'activation lumineuse de composés photosensible : la photothérapie dynamique (Chen *et al.* 2016).

L'objectif de notre travail est de montrer l'effet du phtalocyanine de zinc sur la résistance des bactéries responsables des infections urinaires.

Dans la première partie, purement bibliographique, nous exposons le contexte du sujet. Cette partie est subdivisée en trois chapitres. Nous abordons, tout d'abord, au chapitre I des généralités sur les IU. Dans le chapitre II, nous présentons la photosensibilisation et les différents photosensibilisateurs, entre autres, la thérapie photodynamique. Le troisième chapitre est consacré à l'étude plus particulière du mécanisme d'inactivation microbienne par la photosensibilisation (IPD).La deuxième partie décrit les travaux expérimentaux ; les tests d'antibiogramme et la méthode de photosensibilisation. Elle est suivie d'une discussion qui concerne les différents points soulevés dans les résultats obtenus et une conclusion générale.

PARTIE THIEORIQUE

CHAPITRE I :

LES INFECTIONS URINAIRES

I. 1. Définition de l'infection urinaire :

Les infections urinaires (IU) sont l'une des causes les plus importantes de morbidité et de mortalité touchant les personnes de tous âges. Elles sont situées en seconde position, après les infections respiratoires (Delcaru *et al.*, 2016; Sekhsokh *et al.*, 2008).

Les infections du tractus urinaire (ITU) regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes, elles peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épididymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) (Lobel & Soussy, 2007).

Il est aussi important de distinguer les IU simples (en règle générale vésicales) qui sont les plus fréquentes, survenant la plus part chez les femmes et les IU compliquées (Lobel & Soussy, 2007 ; Puech *et al.* 2004).

I. 2. L'appareil urinaire :

Le tractus urinaire des mammifères est un système d'organes creux contigus dont la principale fonction est de recueillir, transporter, stocker et expulser l'urine périodiquement et de manière très coordonnée. L'appareil urinaire assure l'élimination des produits métaboliques et des déchets toxiques générés dans les reins. Le processus d'écoulement constant de l'urine dans les voies urinaires supérieures et l'élimination intermittente des voies urinaires basses jouent également un rôle crucial dans le nettoyage des voies urinaires, en le débarrassant des microbes qui pourraient déjà avoir accès.

Lorsqu'il n'élimine pas l'urine, le tractus urinaire agit efficacement comme un système fermé, inaccessible aux microbes (Flores-Mireles *et al.*, 2015 ; Hickling *et al.*, 2015).

Il est classique de diviser l'appareil urinaire en deux unités fonctionnelles :

- Le haut appareil urinaire qui comprend le rein et l'uretère.
- Le bas appareil urinaire qui comprend l'urètre et la vessie qui assure le stockage de l'urine et son expulsion (Tortora & Derrickson, 2017) (Figure 01).

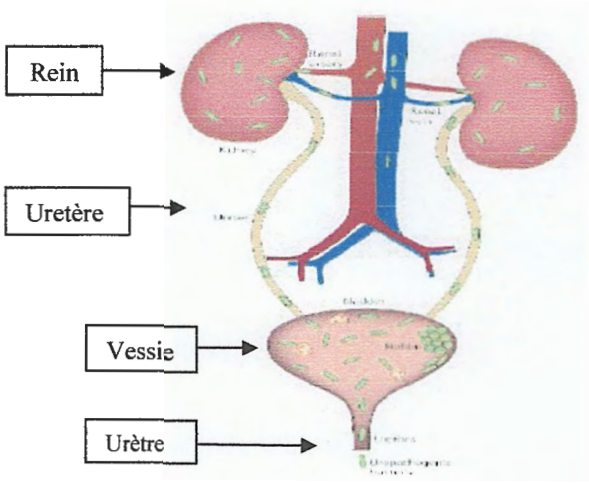


Figure 01 : Schéma des composants de l'appareil urinaire (Flores-Mireles *et al.*, 2015).

I. 3. Physiopathologie :

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore microbienne présente au niveau des derniers centimètres de l'urètre distal et qui est diverse et reflète à la fois la flore digestive (entérobactéries, streptocoques), et la flore cutanée (staphylocoques) (Bruyère *et al.* 2008).

Les micro-organismes atteignent l'appareil urinaire par différentes voies : la voie ascendante qui est le mode principale d'infection par *Escherichia coli* et autres entérobactéries (Dunand *et al.*, 2008), la voie hématogène causant l'atteinte rénale, ou la voie lymphatique (Blery-Krssat *et al.*, 2006).

Toutes les espèces bactériennes ne sont pas identiques sur leur capacité d'induire une infection, cette capacité dépend de facteurs liés à l'hôte et de facteurs liés à la bactérie (facteurs de virulence).

Certaines souches de bactéries, possèdent des facteurs de virulence permettant leur ascension à partir de la flore fécale, le milieu vaginal, ou l'espace péri-urétral, jusqu'à l'urètre et la vessie, ou moins fréquemment, jusqu'aux reins, induisant ainsi une inflammation systémique (Bruyère *et al.* 2008).

I. 4. Les causes de l'infection urinaire :

Plusieurs types de bactéries vivent normalement dans les intestins, le vagin, sur la peau, la vessie et l'urine et qui sont des milieux habituellement stériles. Lorsque les bactéries pénètrent dans la vessie par l'urètre une IU se produit.

Les chercheurs montrent que l'IU se produit par la présence de :

Modification de l'acidité vaginale et des sécrétions vaginales en plus de la diminution normale des hormones œstrogènes après la ménopause, mauvaise hygiène, état nutritionnel déficient (malnutrition), calculs rénaux et flore intestinale (Lobel & Soussy, 2007).

I. 5. Les signes cliniques :

Les IU se manifestent essentiellement par des signes généraux, les brûlures et douleurs à la miction, pollakiurie, malodorante, dysurie, l'existence d'une fièvre et des frissons, choc septique et hématurie macroscopique (Lobel & Soussy, 2007 ; Nison, 2014).

I. 6. Epidémiologie :

Les IU surviennent plus fréquemment chez la femme que chez l'homme, selon les données épidémiologiques, 52% des femmes ont au moins une IU au cours de leur existence (Figure 02).

Différents facteurs favorisent la survenue des IU : les facteurs génétiques, l'âge avancée (ménopause), la prise récente des antibiotiques quel que soit le motif de prescription, antécédents d'IU récidivantes, la grossesse, sexe féminin, activité sexuelle, utilisation des spermicides, troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues, incomplètes), diabète déséquilibré ou compliqué (neuropathie vésicale) et anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire (Eyquem *et al.*, 2005).

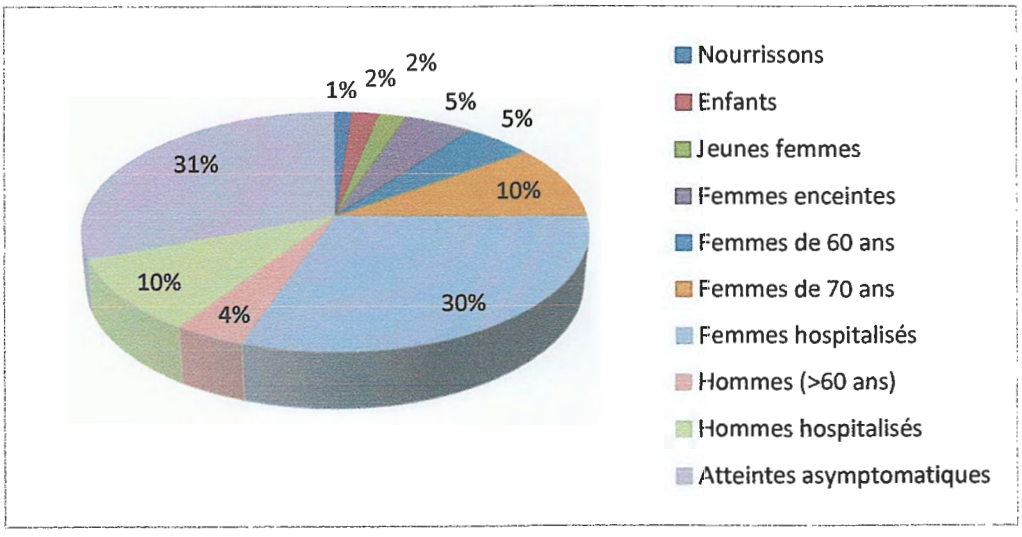


Figure 02 : Fréquence des IU (Eyquem *et al.*, 2005).

I. 7. Les principaux germes responsables des infections urinaires :

Sur le plan bactériologique, les IU causées par des uropathogènes sont généralement des entérobactéries. Parmi elles *Escherichia coli* est le germe le plus fréquemment isolé (plus de 80 % des cas), *Proteus mirabilis* (dans 5 % des cas) plus fréquent chez les sujets de plus de 50 ans (Puech *et al.* 2004), le groupe *Klebsiella - Enterobacter - Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Enterobacter* et *Citrobacter* représente 3 à 4 % des cas. Outre, les germes cités ci-dessus, on rencontre d'autres germes à Gram-positives tels *Streptoccocus* groupe B et *Staphylococcus saprophyticus* (3 à 4 % des cas) (Bruyère *et al.*, 2008) (Figure 03).

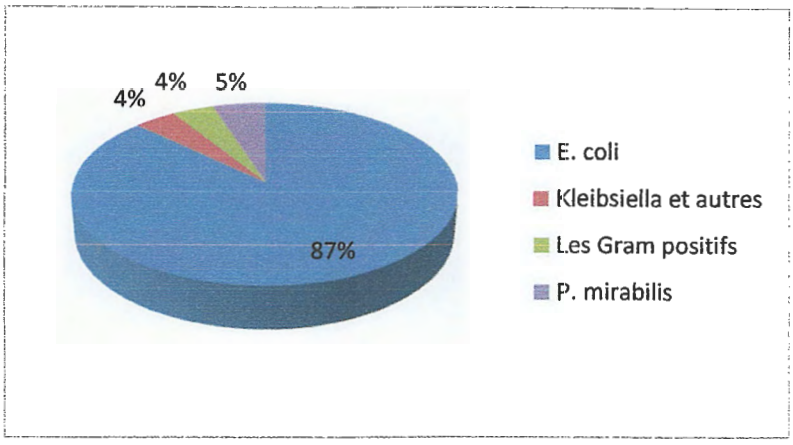


Figure 03 : Répartition des germes responsables des IU (Puech *et al.*, 2004 ; Bruyère *et al.*, 2008).

I. 8. Mécanisme d'action des uropathogènes :

L'épithélium urinaire constitue une barrière fortement imperméable aux bactéries (Landraud *et al.* 2003). La pathogénicité des uropathogènes, notamment à *Escherichia coli*, est due à la présence d'adhésines sur les fimbriæ et la paroi bactérienne qui ont la capacité de se lier à un récepteur présent sur les cellules urothéliales, permettant l'adhésion au tractus; à la présence de flagelles permettant la mobilité, à la production d'hémolysine et d'autres substances activant la réponse inflammatoire et diminuant l'activité bactéricide du plasma (Delcaru *et al.*, 2016).

Proteus mirabilis est redoutable par sa capacité de synthétiser une uréase, qui en alcalinisant puissamment les urines, favorise la survenue de calculs coralliformes (struvite), de traitement difficile et d'évolution péjorative. D'autre microorganismes peuvent coloniser les voies urinaires par la formation de biofilm (Puech *et al.*, 2004).

I.9. Antibiothérapie :

Le traitement de l'IU est depuis longtemps une source de débats sur le choix de l'antibiotique, la voie d'administration et la durée de traitement qui dépendent dans la majorité des cas de la présentation clinique.

Les molécules utilisées dans le traitement des IU sont très nombreuses, depuis les sulfamides, suivis des dérivés de la pénicilline (ampicilline) actifs sur les bactéries à Gram négatif et des premières céphalosporines, des aminosides (gentamicine), du triméthoprime- sulfaméthoxazole jusqu'aux modernes fluoroquinolones.

D'autre part, la disponibilité des autres antibiotiques utilisables dans le traitement des IU (environ 50 molécules avec présentations galéniques multiples, et en nombre croissant du fait du développement des génériques) soulève de multiples problèmes : développement de résistances bactériennes, facteurs d'échec thérapeutique, problèmes de toxicité (gentamicine), durées de

traitement prolongées qui peuvent s'accompagner d'une mauvaise tolérance ou traitements courts ne permettant pas toujours l'éradication bactérienne avec risque d'échecs thérapeutiques.

Aussi le choix d'une antibiothérapie adaptée doit prendre en compte l'ensemble de ces facteurs et les recommandations issues des différents consensus (Bergogne-Bérézin, 2006).

I .10. L'évolution de la résistance des uropathogènes :

L'évolution vers l'accroissement des résistances aux antibiotiques des bactéries responsables des IU, est une tendance connue depuis longtemps, la relation entre augmentation de la résistance et la consommation d'antibiotiques a été notée par de nombreux auteurs: (Howard *et al.,* 2001 ; McDonald *et al.*, 2001; Oteo *et al.*, 2001 ; El Bakkouri *et al.*, 2009).

I.11. Les stratégies thérapeutiques :

L'augmentation progressive des souches résistantes aux antibiotiques et aux antiseptiques a suscité un grand intérêt dans les recherches sur des autres stratégies antibactériennes (Paronyan, 2014).

La méthode thérapeutique classique repose sur l'utilisation des végétaux qui ont toujours constitués une source d'inspiration de nouveaux médicaments (Baudoux, 2000), particulièrement les huiles essentielles (Bouhdid *et al.*, 2005).

Actuellement, une approche attrayante pour le traitement des infections microbiennes est une chimiothérapie antimicrobienne photodynamique. Elle utilise des composés activés par la lumière ou des photosensibilisateurs, et pourrait être efficace pour les infections qui sont difficiles à localiser ou à cibler (Oniszczuk *et al.*, 2016).

CHAPITRE II:

LA PHOTOSENSIBILISATION

II. 1. Historique :

Depuis l'antiquité les effets thérapeutiques de la lumière sont connus, qu'elle soit naturelle ou artificielle. Elle a été utilisée comme traitement pour certaines maladies de la peau, des yeux ou contre le cancer (Ascencio *et al.*, 2007 ; Garcia *et al.*, 2017).

Ce n'est qu'à la fin du XIXème siècle que le concept de photosensibilisation apparaît lorsque Oscar Raab décrit pour la première fois le phénomène phototoxique en associant un colorant (l'acridine ou l'éosine) à la lumière. Par contre, ils n'avaient aucun effet à l'obscurité (Tylcz, 2013 ; Frochot *et ²al.* 2015).

Au début du vingtième siècle (1903), Jesionek et Von Tappeiner traitent un cancer cutané par application topique d'éosine suivie d'une exposition à la lumière blanche (Ascencio *et al.* 2007; Garcia *et al.*, 2013).

En 1904, Tappeiner suppose que l'oxygène est essentiel dans le processus de photosensibilisation et introduit le terme « d'action photodynamique ». Cette supposition sera confirmée en 1909 par Hasselbach (Tylcz, 2013).

Depuis les années 1980, on voit apparaître un grand nombre de nouvelles molécules photoactivables de plus en plus efficaces (Garcia *et al.* 2013).

Le premier photosensibilisateur mis sur le marché en 1985 fut le PhotofrinW, dérivé de l'hématoporphyrine. Depuis, de nouvelles molécules photosensibilisatrices plus actives et plus spécifiques ont été développées (Ascencio *et al.* 2007).

Malgré qu'il existe trois générations de photosensibilisateurs peu de ces molécules ont atteint le stade clinique (Barberi-Heyob *et al.* 2007; Garcia *et al.* 2013).

II. 2. Définition de la photosensibilisation:

On peut définir la photosensibilisation comme le processus suivant lequel un changement photochimique ou photophysique (la photosensibilisation des plaques photographiques par les colorants) se manifeste au niveau d'une entité moléculaire (le substrat) suite à l'absorption de radiations par un photosensibilisateurs (PS).

La photosensibilisation, surtout en présence d'oxygène, joue un rôle majeur dans de nombreux processus d'importance industrielle et biologique, comme par exemple la photodégradation des polymères et l'action photodynamique.

Les effets de substances photosensibilisantes sur les systèmes biologiques sont connus depuis très longtemps et l'on sait que les végétaux et les systèmes vivants y sont sensibles, depuis les organismes unicellulaires tels que les bactéries jusqu'aux animaux supérieurs (Barberi-Heyob *et al.* 2007).

II. 3. Les photosensibilisateurs :

Les photosensibilisateurs sont des molécules non toxiques, biologiquement stables en absence d'activation lumineuse, ils peuvent se localiser dans les cellules, s'activent par la lumière et entraînent finalement la destruction des tissus (Colin *et al.* 2011; Leanne *et al.* 2012; Paronyan, 2014).

Chaque PS est photo activé par une ou plusieurs longueurs d'onde qui lui sont propres et correspondent à son spectre d'absorption (Colin *et al.* 2011).

La plupart des PS utilisés en thérapie photodynamique (PDT) sont issus des macrocycles tétrapyrroliques et sont principalement des porphyrines, chlorines ou phtalocyanines (Leanne *et al.* 2012).

II. 4. Les types des photosensibilisateurs:

Depuis les années 1980, trois générations de PS ont vu le jour (Frochot *et al.* 2015).

Les PS de première génération d'origine naturelle possèdent une demi-vie longue (> 24 heures) responsable, lors d'une administration par voie générale, d'une photosensibilité cutanée prolongée limitant leur utilisation (Colin *et al.* 2011). Ils sont caractérisés par une faible sélectivité pour les tissus cibles, associée à une faible clairance, sont difficile à obtenir à l'état pure et contiennent des composés oligomères responsables de la photocytotoxicité (Frochot *et al.* 2015).

Les PS de deuxième génération ont été développés afin de pallier à ces inconvénients, ils présentent une faible toxicité en absence de lumière. La plupart absorbent fortement dans la partie rouge du spectre optique et possèdent un rendement quantique de formation d'oxygène singulet élevé, permettant le traitement de tumeurs de taille plus importante mais n'ont aucune sélectivité intrinsèque vis-à-vis des cellules tumorales (Garcia *et al.* 2013).

Enfin, les PS dits de troisième génération sont des PS de deuxième génération modifiés (conjugués ou vectorisés) de manière à favoriser leur accumulation préférentielle dans la cellule afin de cibler de façon passive ou active les cellules néoplasiques, et donc d'améliorer la sélectivité pour le tissu à traiter (Barberi-Heyob *et al.* 2007).

II. 5. La phtalocyanine :

L'origine du mot phtalocyanine (Pc) vient du mot grec « naphta » qui décrit un caractère visqueux ou huileux, et « cyanine » qui traduit une couleur bleue foncée portant sur le vert.

Les Pc sont des macrocycles formés par quatre groupements isoindoles qui constituent un système aromatique plan de 42 électrons. Ce sont des colorants de synthèse obtenus à partir

de noyaux pyrroles condensés avec des cycles benzènes et possédant des ponts aza entre les unités pyrroliques (Dougherty *et al.*, 1987).

Les Pc présentent un intérêt particulier en raison de leur forte absorption de la lumière entre 650 et 700 nm, une production d'oxygène singulet ($^1O_2$) très efficace, une forte photostabilité et une facilité de la modification chimique, et peuvent facilement être métallées par le zinc ou le silicium, elles montrent une forte activité photodynamique contre une gamme de Gram-positif et des Gram négatifs, ainsi que des virus enveloppés (Ke *et al.*, 2014) (Figure 04).

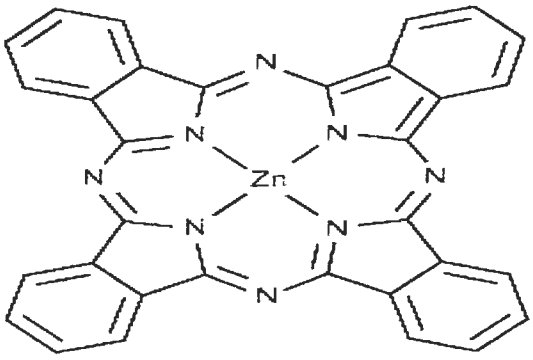


Figure 04: Représentation de la structure chimique de ZnPc (Touaiti *et al.*, 2013).

II.6. Les métallophtalocyanines :

Les métallophtalocyanines (MPc) est une famille de macrocycles aromatiques basées sur un système d'électrons délocalisés de 18 p, sont connus non seulement comme colorants classiques dans l'utilisation pratique, mais aussi comme fonctionnels dans la recherche scientifique (Akkaya *et al.* 2015) (Figure 05).

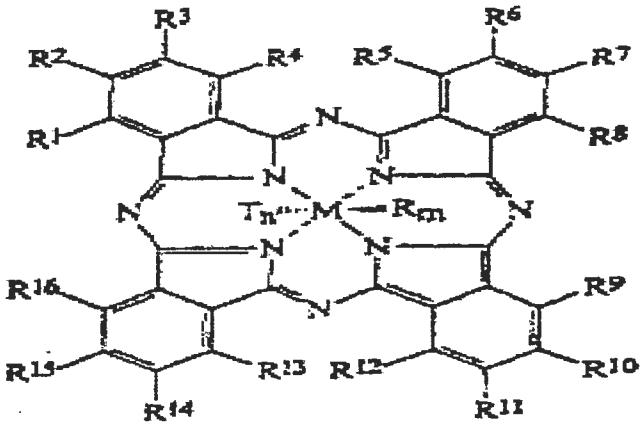


Figure 05 : Représentation de la structure chimique de MPc (Akkaya *et al.* 2015).

II. 7. La thérapie photodynamique :

La thérapie photodynamique (TPD) est une méthode très utilisée dans le domaine médical. Elle se révèle être très efficace pour certains types de cancers et s'avère prometteuse dans d'autres pathologies (Boyer, 2001).

Cette technique faisant appel à l'action concomitante d'une molécule photoactivable, le PS, de lumière de longueur d'onde appropriée et d'oxygène présent naturellement dans le milieu biologique (Frochot *et al.* 2015).

II. 8. Mécanisme de la thérapie :

L'action de la TPD permet grâce à une irradiation lumineuse localisée d'éradiquer les cellules tumorales tout en préservant les cellules saines (Frochot *et al.*, 2015).

La première étape consiste à administrer un PS en topique ou par voie systémique (intraveineuse) à la cellule tumorale (Hamblin, 2016). Après excitation de PS, il s'active sous l'action de la lumière à une longueur d'onde spécifique et en présence d'oxygène. Il peut transférer un électron ou un hydrogène pour produire des composés cytotoxiques (radicaux libres très réactifs) et/ou transférer son énergie à l'oxygène et engendrer la formation d'espèces réactives de l'oxygène, en particulier $^1O_2$ qui est identifié comme l'agent cytotoxique dans la réaction TPD (Frochot *et al.* 2015); Tuchin, 2016). Ce mécanisme déclenche une destruction cellulaire par un effet photochimique probablement associé à un effet vasculaire (Jacques *et al.* 2011) (Figure 06).

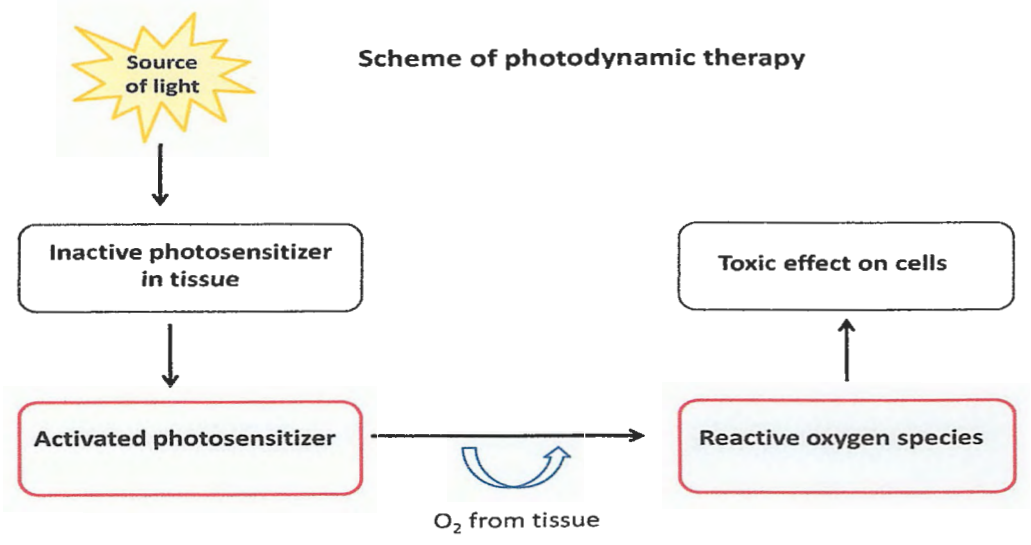


Figure 06: représentation schématique du principe de la TPD (Oniszczuk *et al.* 2016).

II. 9. Mécanismes d'éradication tumorale :

La thérapie photodynamique induit des dommages toxiques directs sur les cellules tumorales conduisant à la mort cellulaire soit par apoptose ou nécrose à cause des composées cytotoxiques ROS ou $^1O_2$. Il peut se produire aussi une destruction indirecte de la tumeur (destruction de la vascularisation tumorale) provoquée par des lésions de son endothélium vasculaire ce qui conduit à l'hypoxie puis à la mort cellulaire, outre, une immunosuppression cytotoxique correspondant à une réponse inflammatoire et immunitaire (Gattegno & Chopin, 2001).

Dans le cas des ZnPc, ils induisent principalement des dommages directs sur les systèmes membranaires des cellules malignes. Par ailleurs, les ZnPc entraînent des dommages vasculaires indirects par action sur l'endothélium (Rodal *et al.*, 1998).

II.10. Les applications cliniques de la thérapie photodynamique :

L'effet photodynamique est largement reconnu en cancérologie. Un autre effet a été mis en évidence ces dernières années, c'est l'effet antimicrobien (Oniszczuk *et al.*, 2016).

Il est utilisée, en urologie (cancer prostate ou cancer vésicaux), gynécologie (dysplasies vulvaire, dysplasies cervicale), dermatologie, gastro-entérologie, neurochirurgie, pneumologie, ophtalmique et aussi dans le cadre de la thérapie parodontale (Mettraux *et al.*, 2011 ; Frochot *et al.*, 2015).

II. 11. Définition du mécanisme d'inactivation microbienne par la photosensibilisation :

La résistance aux antimicrobiens, conséquence de l'utilisation excessive d'antibiotiques, est devenue une menace pour la santé humaine. Actuellement, différences techniques de contrôle microbien sont étudiées. L'inactivation photodynamique des micro-organismes (IPD) est la technique la plus prometteuse dans le domaine de la bactériologie et notamment le problème de la résistance (Ficheux, 2009).

Le concept suit les principes de la TPD des tumeurs : colorants non toxiques, les PS peuvent localiser dans / sur les cellules, s'activent par la lumière, pour générer $^1O_2$ et les ROS, qui sont toxiques pour les cellules cibles (microorganismes) (Adamski, 2008 ; Paronyan, 2014).

II. 12. Mécanisme d'action fondamentale en thérapie photodynamique:

II. 12. 1. Voie d'excitation moléculaire :

L'absorption de la lumière par un chromophore représente la première étape, un PS absorbe un photon, il devient un PS excité (1PS*). Cette 1PS* peut revenir à l'état initial (1PS) Par

fluorescence, ou il peut se convertir en un état excité triplet (3PS*) par croisement intersystème.

le PS à l'état triplet peut phosphorescer jusqu'à ce qu'il retourne à l'état fondamental, ou il peut générer les ROS par deux voies (type I ou II) (González-Delgado *et al.*, 2015).

II. 12. 2. Réaction photochimique :

En présence d'oxygène atmosphérique, le PS excité 3PS* peut suivre deux types de réactions photochimiques de types I et II.

La voie de type I est basée sur le transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène entre 3PS* et un substrat, engendrant des espèces cytotoxiques telles que l'anion superoxyde, le radical hydroxyle ou l'hydrogène.

La voie de type II est la plus importante, car les 3PS* transfère de l'énergie à d'oxygène moléculaire triplet ($^3O_2$) produisant un $^1O_2$ très réactif qui peut oxyder de nombreuses molécules biologiques, comme des protéines, des acides nucléiques et des lipides, et conduisent à une cytotoxicité.

Comme tout PS utilisé en TPD, les ZnPc agissent par formation d'un $^1O_2$ mais ils sont photo-réagissent aussi par transfert d'électrons (Hamblin & Hasan, 2004) (Figure 07).

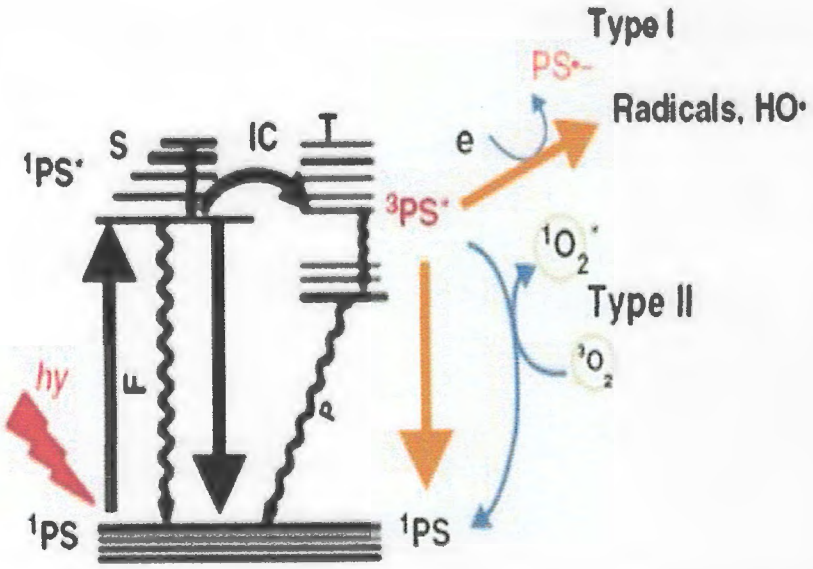


Figure 07: Les différentes étapes de la photosensibilisation (Hamblin, 2016).

II .13. Les agents antimicrobiens photosensibilisants :

Un grand nombre de composés ayant une activité photodynamique sont maintenant disponibles :

- les colorants phénothiazinium, le bleu de méthylène, la toluidine Bleu O, des dérivés de produits naturels comme l'hypericine cationique, le composé cationique de riboflavine et le dérivé cationique de la curcumine ne sont pas des composés très actifs (Hamblin, 2016) (Figure 08).
- les composés synthétiques qui ont une activité beaucoup plus élevée tel que le phtalocyanine de zinc cationique, le phénalénone cationique, et le porphyrine (Ke *et al.* 2014).

L'inactivation photodynamique est basé sur le fait que le PS a une charge cationique prononcée, comme les cellules microbiennes ont en général une charge négative, les cellules et le PS cationique se lieront sélectivement. De plus La liaison du PS aux cellules microbiennes est relativement rapide. Elles sont liées, uniquement à la membrane externe des cellules bactériennes (Jori *et al.* 2006) où elles pénètrent dans le cytoplasme de la cellule microbienne par la fusion (Yin *et al.* 2015).

Pour améliorer la délivrance de PS dans la cellule microbienne, il est possible de concevoir rationnellement des nanoagents et des véhicules pour l'administration de PS.

Les nanoparticules choisies de manière appropriée peuvent augmenter la solubilité du PS hydrophobe (Malik *et al.* 1992 ; Yin *et al.* 2015).

Des approches différentes ont été étudiées pour combiner les nanoparticules et l'inactivation photodynamique pour les applications antimicrobiennes.

L'utilisation de nanoparticules consiste à améliorer la liaison et l'absorption du PS par les cellules microbiennes; Tandis qu'une autre utilisation consiste à améliorer les techniques de photoinactivation microbienne (Yin *et al.* 2015). Il existe deux façons différentes d'utiliser des nanoparticules dans la délivrance de PS:

- ✓ Conjugaison covalente où une liaison chimique est utilisée pour attacher le PS à un constituant de la thenanostructure.
- ✓ Encapsulation ou incorporation non covalente (tels que les liposomes et micelle), cette interactions agit entre le PS et un liposome en fonction de la lipophilie (Perni *et al.* 2011).

L'inactivation photodynamique des microorganismes par différentes groupes chimiques des PS ne cause pas de résistance, car les dommages causés par ROS sont des mécanismes d'action non spécifiques comparés aux antibiotiques. En outre, l'inactivation photodynamique ne conduit pas à la sélection de souches mutantes résistantes ce qui est un avantage par rapport aux antibiotiques standard (Lauro *et al.* 2002, Huang *et al.* 2010).

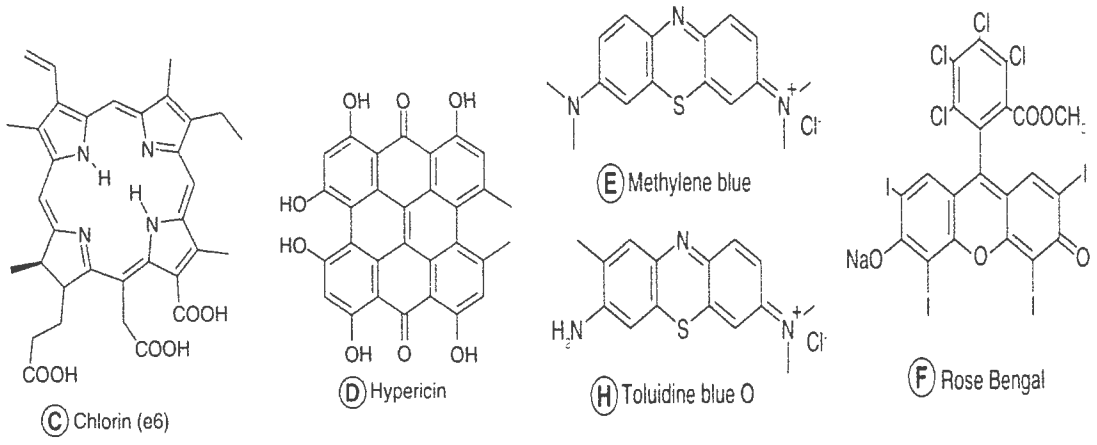


Figure 08 : Structure chimique de certains agents antimicrobiens (Yin *et al*. 2015).

MATÉRIELS ET MÉTHODE

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Objectif de travail :

Dans le but d'étudier l'effet de métallophtalocyanine sur des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, nous nous sommes intéresser à étudier l'action du phtalocyanine de zinc sur des souches bactériennes responsables d'infections urinaires.

La première partie de notre travail qui consiste a isoler, identifier et mesurer la concentration minimale inhibitrice des souches testées, a été réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie du Docteur Bekioua Ahmed à Jijel.

La deuxième partie de notre travail comprend l'étude du comportement des mêmes souches aux antibiotiques après photosensibilisation. Ces tests, on été réalisés au sein de laboratoire de Microbiologie de l'université de Jijel.

IV. 1. Matériels de l'étude :

IV. 1. 1. Les souches bactériennes :

Différentes espèces bactériennes ont été isolées à partir d'urines de patients présentant un tableau clinique d'infection urinaire.

IV. 1. 2. Les milieux de culture :

- milieu Chapman pour l'isolement des staphylocoques ;
- milieu Hektoen pour la caractérisation et l'identification des entérobactéries ;
- milieu Muller Hinton pour la réalisation de l'antibiogramme et la CMI ;

IV. 1. 3. Les produits chimique, réactifs et tampons utilisés :

- Réactifs pour la coloration de Gram (le Violet de gentiane, le lugol, l'alcool, la fushine et l'huile à immersion)
- L'eau physiologie stérile ;
- l'eau distillée stérile: pour la préparation des dilutions
- molécule de phtalocyanine de zinc ;
- Le sérum humain ;
- DMSO (DiMéthyle SulfOxyde) ;

IV. 1. 4. appareils du laboratoire :

- ✓ Etuve (37C°) (Memmert) ;
- ✓ Microscope optique (OLYMPUS cx 21) ;
- ✓ Autoclave (Pbibrand) ;
- ✓ Bain Marie (Gerhardt bonn) ;
- ✓ Bec bunsen ;
- ✓ Réfrigérateur ;

- ✓ Vortex (VELP) ;
- ✓ La machine (VITEK 2®) (bioMérieux) pour réalisée l'antibiogramme automatisée ;
- ✓ Balance analytique (KERNALS220-4N);
- ✓ Lampes rouge ;

IV.1. 5. Les antibiotiques testés:

Les antibiotiques testés appartenaient à la famille des béta-lactamines (Ampicilline (AMP) , amoxicilline / acide clavulanique (AMC), ticarcilline (TIC), pipéracilline (PIP), céfalotine (CFT), céfoxitine (FOX), oxacilline (Oxa), céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), Ertapénème (ERT), imipénème (IPM), Benzylpénicilline (PG)), des aminosides (amikacine (AMI), gentamicine (GEN), tobramycine (TOB), kanamycine (K)), des quinolones et fluoroquinolones (acide nalidixique (NAL), ciprofloxacine (CIP), ofloxacine (OFX), nitrofurantoine (NIT)), des sulfamides, triméthoprime (TMP), des macrolides (clindamycine (CM), érythromycine (EM)), des glycopeptides (téicoplanine(TEC), vancomycine (VA)), des cyclines, tétracycline (TET), des antibiotiques divers (fosfomycine (FOS), acide fusidique (FD), rifampicine (RIF)).

IV.2. Méthode de travail :

IV. 2. 1. Recueil des urines (prélèvement) :

Les urines du deuxième jet (du milieu du jet) sont recueillies le matin dans un flacon stérile (le flacon doit porter une étiquette permettant d'insérer le nom et prénom du malade, ainsi que la date du prélèvement) après lavage soigneux des organes génitaux externes avec une solution antiseptique. L'urine des enfants a été recueillie par une poche collectrice.

IV. 2. 2. Examen cytobactériologique urinaire (ECBU) :

Chaque urine est adressée au laboratoire de microbiologie a fait l'objet d'un ECBU qui comprend :

- ➢ un examen direct sous microscope à l'objectif (x40) réalisée après centrifugation des tubes. Il permet d'apprécier les éléments figurés de l'urine (hématies, cristaux, cylindres...) et la leucocyturie,
- ➢ une uroculture avec dénombrement de germes (bactériurie)

Le diagnostic biologique d'infection urinaire est basé sur les critères classiques de Kass.

La réalisation de l'ECBU comprend les différentes étapes indiquées dans le schéma ci-dessus.

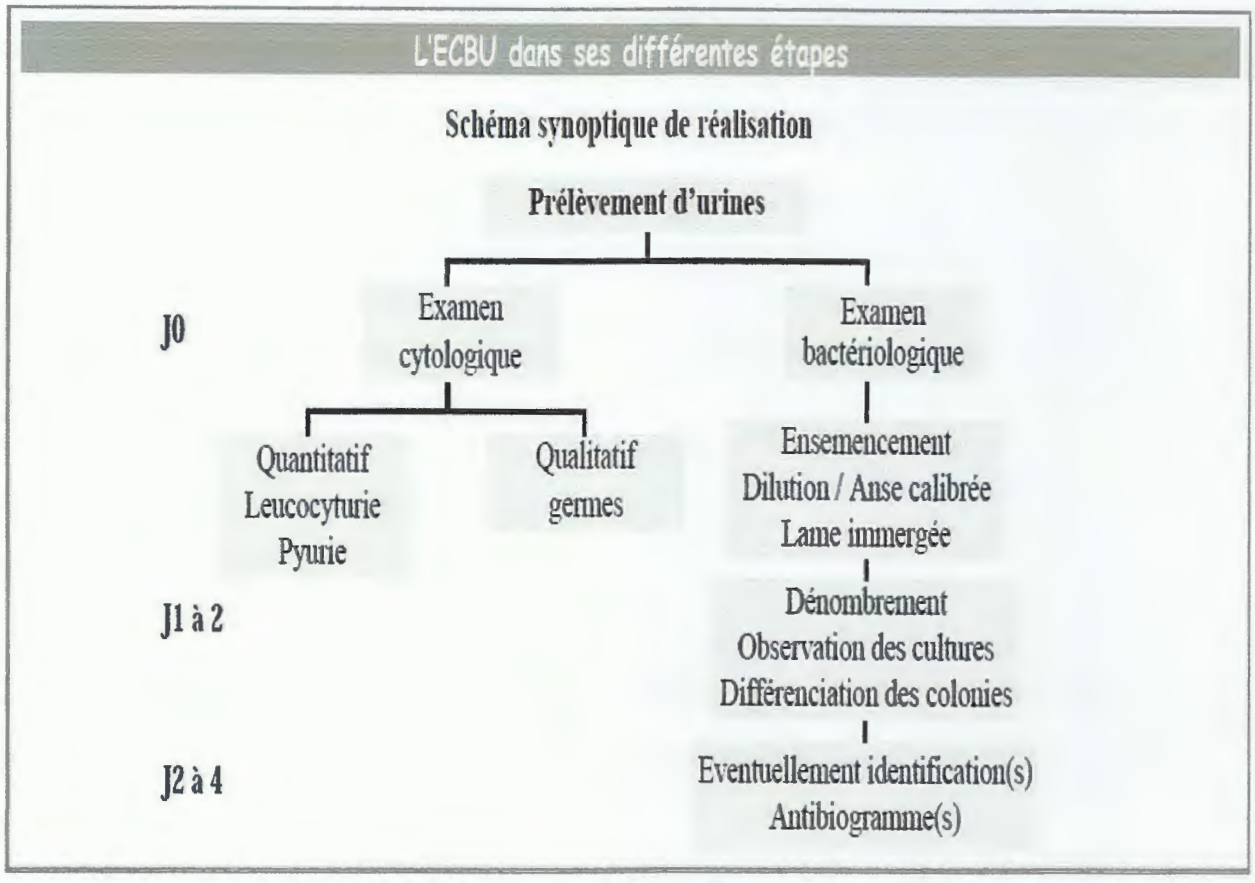


Figure 09: Schéma des différentes étapes de l'examen cytobactériologique des urines (Moinard, 1987).

IV.2. 3. Ensemencement et incubation:

L'ensemencement des boites se fait par étalement à l'aide d'un râteau sur la gélose nutritive, puis incubation dans l'étuve à 37°C pendant 18h.

IV.2. 4. Identification des germes :

Les boites positives ont été retenues pour notre travail.

Après avoir assuré la pureté des souches, on a procédé à leur identification puis un antibiogramme a été réalisé. Quelques tests ont été réalisés par la méthode classique et en parallèle les mêmes tests ont été réalisés par des méthodes automatisés. Pour cela on suit les étapes suivantes :

IV.2. 4. 1.Préparation des cartes identification :

1. transférer 3 ml de solution saline dans un tube (1).
2. sélectionner des colonies isolés et les mettre en suspension homogène dans la solution saline et bien mélangé.
3. contrôler la densité optique de la suspension mère avec le Densichek Plus (bioMérieux) (annexe 03).

4. prend une carte Identification et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube (1) contenant la suspension mère.

IV.2. 4. 2. Préparation des cartes d'antibiogramme :

1. transférer 3 ml de solution saline dans un tube (2).

2. en utilisant les pipettes manuelles fournies avec le système, transférer de la suspension mère tube (1) vers le tube (2) :

- pour les GRAM négatifs : 145 µl du tube (1) vers le tube (2) avec la pipette manuelle rouge.
- pour les GRAM positif : 280 µl du tube (1) vers le tube (2) avec la pipette manuelle bleue.

3. prendre une carte antibiogramme et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube (2) contenant la suspension mère diluée.

4. refaire les étapes sus cités pour les autres échantillons avant de charger la cassette dans le Vitek 2 compact.

IV.2. 4.3. Remplissage et chargement des cartes dans le VITEK 2® compact :

1.placer les cartes ID/ ou AST sur une cassette, puis chargé la cassette dans l'instrument (chambre d'incubation) puis fermer la porte.

2. s'assurer dans l'interface utilisateur de l'instrument :

- lancer remplissage, prêt
- état de l'instrument, ok

A ce moment appuyé sur le bouton « lancer remplissage », un voyant lumineux indique au bout de 70 secondes que le cycle de remplissage est terminé.

3. retirer la cassette de la chambre d'inoculation puis ouvrir la porte du lecteur-incubateur, placer la cassette à l'intérieur (dans un délai maximum de 10 minutes) puis fermer la porte.

4. un voyant lumineux indique que le chargement des cartes est terminé.

Retirer la cassette vide du lecteur-incubateur, l'instrument lit les codes à barres des cartes et de la cassette, et envoie automatiquement les informations au logiciel.

IV.2. 4. 4.Accés à l'application V2C :

Les données concernant les ECBU étaient obtenues grâce au logiciel V2C (bioMérieux) (annexe 03) du laboratoire centralisant les ECBU pour les analyses, en recherchant les résultats de l'ECBU correspondant à chaque échantillon.

IV. 3. Les tests réalisés :

IV. 3. 1. La revivification et contrôle de la pureté des souches :

La revivification des souches a été réalisée au niveau de laboratoire de l'université, ont ensemence chaque souche sur leur milieu sélectif ; le milieu Chapman pour les staphylocoques et le milieu Hektoen pour les entérobactéries. Incubation dans l'étuve a 37°c pendant 24h.

La pureté des souches a été vérifiée par un examen microscopique après coloration de Gram.

IV. 3. 2. Etude de sensibilité aux antibiotiques :

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques, il sert à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et a l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (CA-SFM ,2010). Cette étude a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller- Hinton (MH) selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM) (CA-SFM, 2008).

IV. 3. 2. 1. Technique d'antibiogramme standard en milieu gélosé :

La réalisation de l'inoculum, consiste à prélever une colonie de la bactérie à étudier et a émulsionner dans un tube en verre contenant 10 ml d'eau distillée (environ 10^5 -10^6 UFC/ml) (Camille, 2007).

L'ensemencement par inondation est réalisé avec une quantité suffisante de l'inoculum selon les recommandations du Groupe International d'Etude sur les Tests de Sensibilité aux Antibiotiques.

Suivi s'enlèvement l'excès de liquide à l'aide d'une pipette Pasteur, Une fois le liquide enlevé, des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotiques sont déposés sur la surface de la gélose avec incubation à l'étuve à 37°C pendant 18 h (Camille, 2007).

La lecture et l'interprétation des résultats ont été réalisées en comparant les diamètres des zones d'inhibition obtenus à ceux CA-SFM. Ces diamètres, sont déterminant pour le niveau de résistance et de la sensibilité d'une souche bactérienne à l'antibiotique en question (Burnichon & Texier, 2003; Poilane *et al.*, 2007).

IV. 3. 2. 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Afin de pouvoir conclure sur la sensibilité d'une souche à un antibiotique donné, il faut déterminer sa CMI vis- à- vis de cette molécule. C'est la méthode de référence préconisée par l'OMS.

Cette CMI correspond à la plus petite quantité d'antibiotique capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu (Archambaud, 2000).

IV. 3. 2. 2. A . Le protocole standard de la CMI : Préparation de la suspension bactérienne:

À partir d'une culture jeune (24h), on prélève une colonie bactérienne a l'aide d'une anse de platine stérile, bien mélanger la colonie prélevée avec 5 ml d'eau distillé stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne à 10^5- 10^6 UFC/ml.

IV. 3. 2. 3. L'antibiogramme automatique :

Le principe de la méthode est celui des dilutions en milieu liquide, les concentrations d'antibiotiques figurant dans le système sont exclusivement les concentrations critiques, par rapport auxquelles les souches seront définies en sensibles, intermédiaires ou résistantes.

La lecture, après 16 a18 heures d'incubation est faite par une machine de lecture (VITEK 2®) qui interprète la densité optique liée a la croissance bactérienne (par rapport a des témoins positifs et négatifs), et qui inscrit automatiquement la sensibilité de la bactérie (S, R ou I) sur un feuillet de résultats (Bergogne-Berezin *et al.*, 1978).

IV. 4. Etude de l'effet de la photosensibilisation :

Pour réaliser cette partie expérimental nous avons sélectionné cinq souches bactériennes (E. coli (E_3), K. pneumoniae (K_2), E. cloacae (E_n), S. saprophyticus (S_1), S. lentus (S_2)) présentant des résistances bien notables et ceci par manque de moyen et de la non disponibilité des cassates.

Cette méthode décrite par (Chen *et al.*, 2016 ; Ke *et al.*, 2014) à été appliquée avec quelque modification.

IV. 4. 1. Préparation des dilutions :

D'abord, nous avons préparés la solution mère de phtalocyanine de zinc à 1 mg /ml (3mg de PcZn avec 3ml de DMSO), a partir de laquelle nous avons réalisé une série de dilution (0,5 mg/ml, 0.25 mg/ml……).

IV. 4. 2. Préparation des suspensions bactériennes :

A partir d'une culture pure et jeune, on prélève une colonie et on la transfert dans un tube a essai contenant 5 ml d'eau distillée stérile.

On prépare 5 suspensions bactériennes, chacune correspond à un germe précis.

IV. 4. 3. Ensemencement :

0.5 ml de la dilution ½ de ZnPc ml a été incorporer en masse à 19.05 ml de MH. L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage, on frotte l'écouvillon trempé dans l'inoculum sur la totalité de la surface de la gélose. Ces boites ont été soumises ensuite à irradiation à la lumière rouge à 1600 W pendant 2h puis elles ont été incubées à 37°C pendant 18h (Figure 10) (annexe 4).

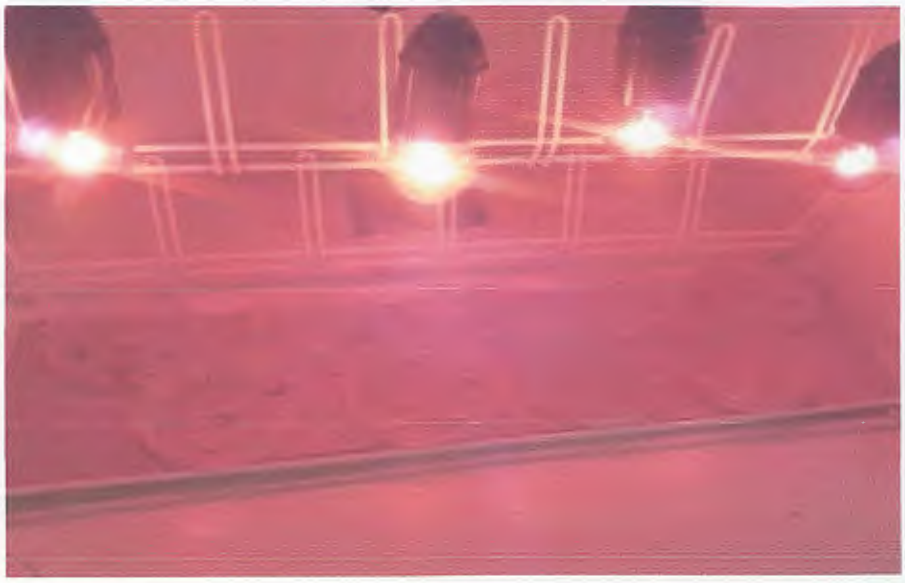


Figure 10: Irradiation des boites de Pétri par la lumière rouge pendant 2h.

IV. 5. Test de diffusion sur gélose :

Pour réaliser ce test on a besoin de préparé 10 suspensions bactériennes a partir des souches isolées des infections urinaires généralement des entérobactéries et quelque coques à Gram positifs, chaque suspension correspond a une souche précise.

Pour chaque concentration de ZnPc (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml), trois disques de papier watman n°3 imprégné dans 20 µl sont déposés à la surface de la gélose Muller Hinton ensemencée avec le germe à étudier (Gayral *et al.*, 1984) (Figure 11).

Ces boites ont été irradiées à la lumière rouge pendant 2h puis elles sont incubées à 37°C pendant 18h.

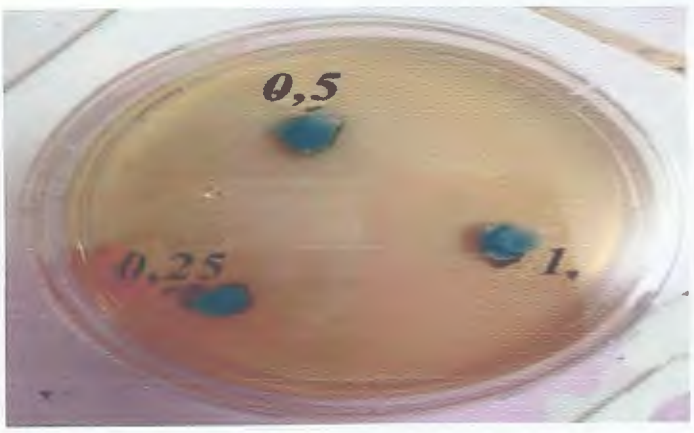


Figure 11 : Test de diffusion sur gélose.

RÉSULTAT

ET

DISCUSSION

V. Résultats et discussion

Nous avons analysé différentes variables pour répondre à l'objectif de l'étude.

V. 1. La fréquence d'infection urinaire selon le sexe et l'âge :

Nous savons que les infections urinaires chez la femme sont plus fréquentes, nos données nous ont permis de vérifier ces informations.

- ✓ 68% des infections urinaires de notre étude ont concerné des femmes (Figure 12).

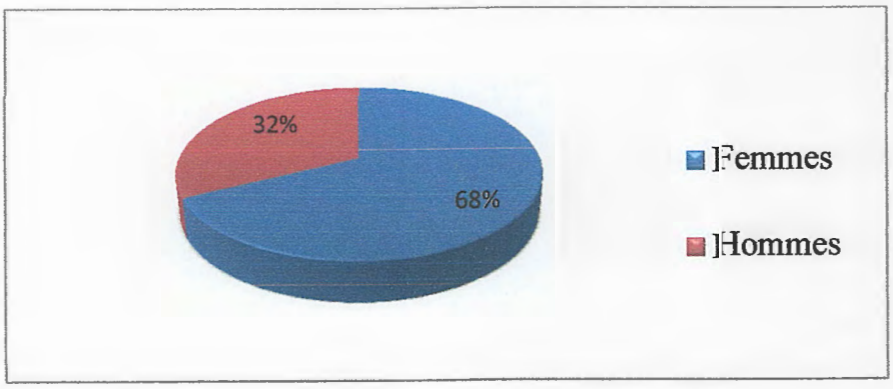


Figure 12: Répartition des patients ayant contracté une IU selon le sexe.

Selon (Elkharrat *et al.* 2007), les femmes sont beaucoup plus atteintes d'infections urinaires que les hommes.

Ceci est dû à :

- ✓ la brièveté de l'urètre
- ✓ les relations sexuelles qui favorisent l'accès des bactéries à la vessie.

En revanche, 32% des infections urinaires de notre étude ont concerné des hommes (Figure 13). D'après (Bruyère *et al.*, 2008), les infections urinaires chez l'homme sont généralement dû à une hypertrophie prostatique banale, de la vidange incomplète de la vessie lors de la miction et d'un résidu vésical.

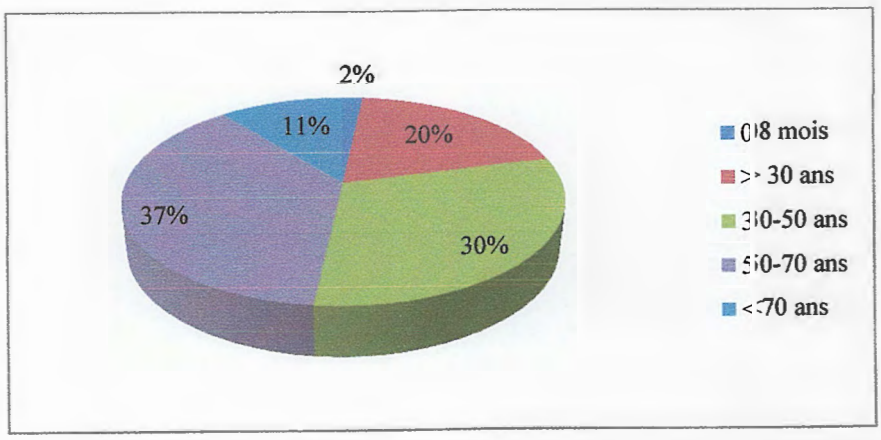


Figure 13: Répartition d'IU en fonction des tranches d'âge des patients.

V. 2. L'examen bactériologie :

V. 2. 1. Examen direct

➢ **Leucocyturie :**

La leucocyturie est considérée comme le témoin d'une atteinte inflammatoire des tissus de l'arbre urinaire.

Selon les critères de Kass, une leucocyturie est dite positive si elle est supérieure ou égale à 10^4 élément/ ml (Larabi *et al.*, 2003) (Tableau I).

Tableau I : numération des leucocyturie urinaire.

	Leucocyturie $<10^3$	Leucocyturie $>10^4$
Nombre d'ECBU	8 (14,28 %)	48 (85 ,71 %)

Dans notre série, la leucocyturie était positive chez 48 patients (85,71 %), le seuil de significativité pour considérer l'existence d'une IU est supérieur ou égal à 10^4/ml.

En revanche, la leucocyturie était négative chez 8 patients (14,28 %). Le seuil pour considérer l'absence d'une IU est inférieur ou égal à 10^3/ml. Elle aurait une excellente valeur prédictive de l'absence de bactérieurie et d'une IU (Émile, 2011) (Tableau I).

La présence d'une bactériurie sans leucocyturie montre que l'infection pourrait être débutante et donc un prélèvement très précoce et le patient a consulté rapidement ou d'IU avec mauvaise conservation des urines (lyse des leucocytes), ou d'une bactériurie asymptomatique (Émile, 2011).

L'examen microscopique direct à l'état frais a permis de mettre en évidence des leucocytes dans 48 des cas (85 ,71 %) mais aussi d'autres éléments ont été mis en évidence dans le culot urinaire :

- ✓ Les hématies : un nombre important confirme la possibilité d'une IU.
- ✓ Les cellules uro-épithéliales : la présence des cellules épithéliales est normale, elles tapissent et protègent la paroi interne de la vessie.
- ✓ Les cristaux : leur présence dépend de la composition, de la concentration et de l'acidité urinaire (Figure 14).
- ✓ Les cylindres : représente des agglomérats de protéines se produisant au niveau du rein.
- ✓ Les levures : la présence des levures peut indiquer une infection par candida.
- ✓ Les trichomonas : c'est le principal agent de vaginite, ce protozoaire vit sur les organes sexuels masculin ou féminin.

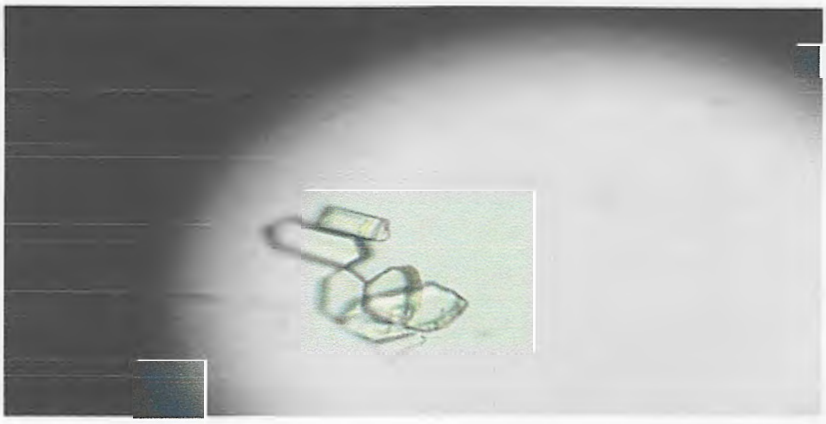


Figure 14 : Cristaux de phosphate amoniacomaghésiens et de oxalate de calcium sous microscope optique.

➢ **Bactériurie :**

Plusieurs seuils ont été définis en fonction de la clinique et de l'espèce, en suivant les critères de Kass :

- ✓ une bactériurie > 10^5 UFC/ml traduit l'infection des urines ;
- ✓ une bactériurie < 10^3 UFC/ml exclut l'infection urinaire ;
- ✓ une bactériurie comprise entre 10^3 et 10^5 UFC/ml requiert un ECBU de contrôle car elle peut traduire une infection dans certaines circonstances (Cavallo & Garrabé, 2003).

V. 2. 2. Examen indirecte :

Nous avons réalisé 563 ECBU, dont 56 répondaient aux critères d'une infection urinaire soit 9,94% de positivité.

Dans notre étude, les germes en cause proviennent majoritairement de la flore digestive des patients. Il s'agît essentiellement d'entérobactéries, et d'autres germes à Gram positif généralement des staphylocoques.

Par ordre de fréquence, nous avons :

Escherichia coli représente l'espèce prédominante avec 32 souches (57 ,14 %), suivi de 16 souches (28,56 %) de *Klebsiella pneumoniae* et de diverses autres espèces (14,3%) : il s'agit de 03 souches (5,36%) de *Stapylococcus sp,* 02 souches (3,57%) *de Serratia sp,* 01souches (1,79%) *d'Enterobacter cloacae,* 01souches (1,79%) de *Proteus mirabilis* et 01souches (1,79%) de *Morganella morganii* (Figure 15).

La fréquence des bactéries responsables d'infection urinaire est conforme avec les résultats de la littérature. En effet pour la plupart des auteurs ; (Dellamonica *et al.*, 1986 ; Roberts, 1991 ; Lee &

Neild, 2007; El Bakkouri *et al.* 2009; Sautenet *et al.* 2010) le germe le plus fréquemment rencontré est *E.coli.*

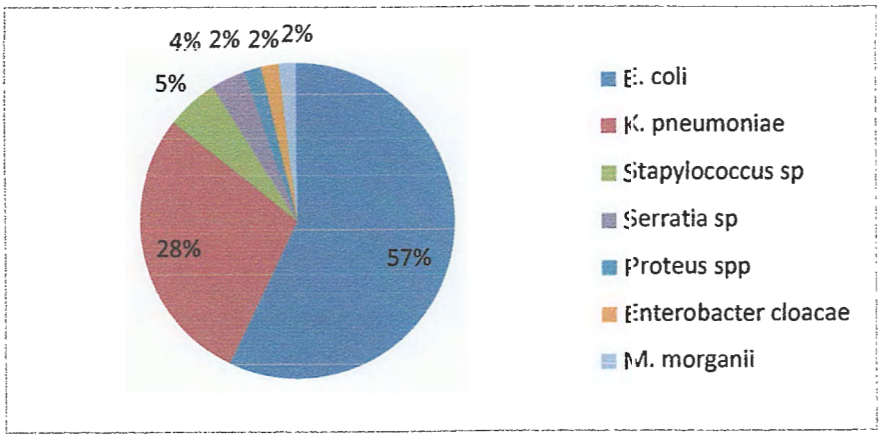


Figure 15 : Fréquence des germes isolés.

V.3. Les résultats de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

Pour réaliser notre étude, seules les souches bactériennes présentant un profil de résistance acquise aux antibiotiques ont été retenues, 06 souches pour *E. coli* ($E_1 \rightarrow E_6$), 05 souches pour *K. pneumoniae* ($K_1 \rightarrow K_5$), 02 souches pour les staphylocoques ; *S. saprophyticus* (S_1) et *S. lentus* (S_2), et une souche pour *E. cloacae* (E_n).

V. 3. 1. Tests de sensibilités avant photosensibilisation:

V. 3. 1. A. Test de diffusion sur gélose:

Les résultats de l'antibiogramme montrent la formation de différentes zones d'inhibition autours des disques d'antibiotiques testés, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle.

Selon le tableau II, l'ampicilline montre une zone d'inhibition de 8 mm pour K_2, E_1, E_2, les mêmes valeurs sont obtenues avec la vancomycine testé avec E_1, E_2.

Certaines souches testées K_2, E_1, S_2, présentent respectivement une résistance vis-à-vis de la vancomycine, imipénème et pipéracilline.

Tableau II : Résultats de diamètre des zones d'inhibition de l'antibiogramme.

Code des souches / Antibiotiques	Diamètres lu (mm)					
	K_2	E_1	E_2	S_1	S_2	E_n
S	23	22	19	NT	45	25
AMP	8	8	8	18	NT	9
VA	R	8	8	52	R	R
PIP	9	8	9	15	R	NT
IPM	35	R	NT	NT	32	32
TET	NT	NT	12	NT	30	NT
CFT	NT	NT	NT	NT	NT	14
CIP	NT	NT	NT	52	NT	NT

NT : Non testé, **R :** Résistance.

Par contre des autres antibiotiques n'ont pas été testé (céfalotine, tétracycline, ciprofloxacine) vis-à-vis des mêmes souches étudiées a cause de la non disponibilité des disques d'antibiotiques.

V. 3. 1. B. Test antibiogramme automatisé :

Nous avons déterminé la CMI des antibiotiques pour les souches *E. coli* (E_3), *K. pneumoniae* (K_2), *Staphylococcus saprophyticus* (S_1), *Staphylococcus lentus* (S_2), *E. cloacae* (E_n).

➢ **Antibiogramme pour** *E. coli* **:**

L'antibiogramme réalisé avec différents antibiotiques sur *E. coli* donne les résultats suivants :

A partir des CMI obtenues présentés dans le tableau III, on remarque que *E.coli* montre une résistance à l'ampicilline, ticarcilline, céfalotine, céfotaxime, céftazidime, acide nalidixique, ciprofloxacine, ofloxacine, nitrofurantoine, triméthoprime. Ces résistances correspondent respectivement aux CMI suivantes : (≥32 µg /ml), (≥128 µg /ml), (32 µg /ml), (32 µg /ml), (≥32 µg /ml), (≥4 µg /ml), (≥8 µg /ml), (128 µg /ml) et (≥ 320 µg /ml).

Les aminosides montre une bonne activité sur le germe testé, avec des concentrations faibles ≤2 µg /ml, et ≤1 µg /ml).

Tableau III : Résultat de l'antibiogramme vis-à-vis d'*E. coli*.

Souche / Antibiotiques	*E. coli*	
	CMI (µg/ml)	**Interprétation**
AMP	≥32	R
AMC	8	S
TIC	≥128	R
PIP	16	S
CFT	16	R
FOX	8	S
CTX	32	R
CAZ	32	R
ERT	≤0.5	S
IMP	≤0.25	S
AMI	≤2	S
GEN	≤1	S
TOB	≤1	S
NAL	≥32	R
CIP	≥4	R
OFX	≥8	R
NIT	128	R
TMP	≥320	R

Parmi les bétalactamines actifs sur les souches d'*E. coli*, l'imipénème présente une forte activité avec une CMI de ≤0.25 µg/ml .Ces résultats sont identique a ceux trouvés par (Arsalane *et al.* 2014) qui montre qu'aucune résistance à l'imipénème n'a été mise en évidence pour les souches d'*E. coli*.

Par ailleurs, elle est sensible aux aminosides qui ont une forte activité sur ce germe avec une CMI de ≤1 µg/ml, ces résultats sont conforme à celle décrits par (Yala *et al.*, 2001). Ce dernier montre que les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes des bactéries entrainant la destruction bactérienne.

➢ **Résultats de l'antibiogramme pour *K. pneumoniae* :**

Les résultats de l'antibiogramme de la souche de *K. pneumoniae* (K_5) sont résumés dans le tableau IV.

Tableau IV: résultat d'antibiogramme de *K. pneumoniae* (K_5)

Souche / antibiotiques	*K. pneumoniae*	
	CMI	**Interprétation**
AMP	≥32	R
AMC	16	I
TIC	≥ 128	R
PIP	≥ 128	R
CF	≥ 64	R
FOX	≤ 4	S
CTX	≥ 64	R
CAZ	≥ 64	R
ERT	≤0,5	S
IMP	≤ 0,25	S
AMI	4	S
GEN	≥ 16	R
TOB	≥ 16	R
NAL	≥ 32	R
CIP	≥ 4	R
OFX	≥ 8	R
NIT	64	I
TMP	≥320	R

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que *K. pneumoniae* est sensible aux céfoxitine avec une CMI ≤ 4 µg /ml, à l'imipénème avec une CMI ≤ 0,25 µg /ml, à l'érythromycine avec une CMI ≤0,5 µg /ml et à l'amikacine avec une CMI de 4 µg /ml).

Par contre elle présente une résistance vis-à-vis du reste des antibiotiques testés avec des CMI variables entre ≥ 4 µg /ml pour ciprofloxacine et ≥ 320 µg /ml pour le triméthoprime.

K. pneumoniae montre des résultats intermédiaires à l'amoxicilline / acide clavulanique avec une CMI de 16 µg /ml, et à la nitrofurantoine avec une CMI de 64 µg /ml.

A partir des résultats obtenus, *K. pneumoniae* présente une résistance à la majorité des antibiotiques testés. Elle représente une résistance à la plupart des béta-lactamines et des

aminosides (résistance naturelle) à l'exception de l'imipinème, l'ertapénème, l'amikacine et la cefoxitine qui présentent une bonne activité. D'après (Yala *et al.,* 2001) cette résistance est due a une pénicillinase constitutive. Elle montre aussi une résistance aux quinolones.

➢ **Résultats de l'antibiogramme pour *Enterobacter cloacae* :**

La souche *Enterobacter cloacae* est testée avec des antibiotiques spécifiques aux entérobactéries, les résultats de l'antibiogramme automatisé sont rapportés dans le tableau V.

Tableau V : Résultat d'antibiogramme de la souche *Enterobacter cloacae.*

Souche / antibiotiques	*E. cloacae*	
	CMI	**Interprétation**
AMP	-	-
AMC	≥32	R
TIC	≥128	R
PIP	≥128	R
CF	≥64	R
FOX	≥64	R
CTX	≥64	R
CAZ	≥64	R
ERT	-	-
IMP	≤0.25	R
AMI	≥64	R
GEN	≥16	R
TOB	≥16	R
NAL	≥32	R
CIP	≥4	R
OFX	≥8	R
NIT	256	R
TMP	≥320	R

A partir des résultats, nous remarquons que *E. cloacae* isolée montre une résistance à tous les antibiotiques testés avec des CMI variables entre ≤0.25 µg /ml à l'imipénème et ≥ 320 µg /ml pour triméthoprime.

D'après des études (Pagès, 2004) réalisées sur divers isolats de genre *Enterobacter* en clinique, sa résistance est la cause d'une réduction de la perméabilité membranaire due à une perte des porines.

Selon (Helander *et al.* 1997) la production à haut niveau de la βéta-lactamase chromosomique de classe C est un mécanisme fréquent de résistance.

Aussi et d'après l'étude de (**Khalifa & Khedher,** 2010), la résistance des entérobactéries aux céphalosporines est renforcée par l'acquisition de βéta-lactamases à spectre élargi (BLSE), cette enzyme est transmise rapidement et facilement aux bacilles à Gram négatif.

D'autre part la résistance des entérobactéries est en relation direct avec leur structure, l'enveloppe des bacilles à Gram négatifs comprend deux éléments, une membrane cytoplasmique et une paroi qui est composé d'une mince couche de peptidoglycane et une membrane externe qui est absente chez les Gram positif. Cette membrane constitue à la fois une barrière de protection contre les agents toxiques présents dans le milieu. La perméabilité de ces deux structure joue un rôle majeur dans la sensibilité, elle peut en effet moduler la diffusion (passive) de l'antibiotique, lors de son entrée, et réguler son expulsion (active) (Pagés & Garnotel, 2003).

- **Résultats de l'antibiogramme pour les staphylocoques :**

Les résultats de l'antibiogramme automatisé des souches de *Staphylocoque* sont rapportés dans le tableau VI.

Tableau VI: Résultat d'antibiogramme des souches de staphylocoque.

Souche / ATB	*Staphylococcus saprophyticus*		*Staphylococcus lentus*	
	CMI	**interprétation**	**CMI**	**Interprétation**
Test FOX screen	NEG	-	POS	+
PG	≥0.5	R	≥0.5	R
Oxa	≥4	R	≥4	R
GEN	≤0.5	S	≤0.5	S
K	≤4	S	≤4	S
TOB	≤1	S	≤1	S
OFX	1	S	1	S
R .inductible a CM	NEG	-	NEG	-
EM	≥8	R	≥8	R
Lin	≥16	R	≥16	R
PT	≥8	R	≥8	R
TEC	≥32	R	≥32	R
VA	≥32	R	≥32	R
TET	≤1	S	≥16	R
FOS	≥128	R	≥128	R
NIT	≤16	S	32	S
FD	16	I	≥32	R
RIF	≥4	R	≥4	R
TMP	≤10	S	≤10	S

A partir des résultats, on remarque que les souches de staphylocoque montrent une résistance aux benzylpénicilline avec une concentration ≥ 0.5 µg /ml, à l'oxacilline avec une CMI ≥ 4 µg /ml, à l'érythromycine avec une CMI ≥ 8 µg /ml , aux Lincomycine avec une CMI ≥ 16 µg /ml, à la pristinamycine avec une CMI ≥ 4 µg /ml, à la téicoplanine avec une CMI ≥ 32 µg /ml , à la vancomycine avec une CMI ≥ 32 µg /ml, à la fosfomycine avec une CMI ≥ 128 µg /ml, et la rifampicine avec une CMI ≥ 4 µg /ml.

Dans notre travail, le test de sensibilité révèle que les staphylocoques montrent une sensibilité à la gentamycine, kanamycine, tobramycine, ofloxacine nitrofurantoine, triméthoprime. Ces sensibilités correspondent respectivement aux CMI suivantes : (≤ 0.5 µg /ml), (≤ 4 µg /ml), (≤ 1 µg /ml), (1 µg /ml), (≤ 16 µg /ml) et (≤ 10 µg /ml).

Selon (Leclercq, 2002), les mécanismes et les gènes de résistance des staphylocoques dorés et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les mêmes.

La résistance aux bétalactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes, un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline.

Le haut niveau de résistance des uropathogénes s'explique par la surconsommation d'antibiotiques dans les infections respiratoires, ils ont contribués à l'évolution de la résistance des bactéries de l'écosystème intestinal. En effet, les traitements par aminopénicillines, céphalosporines ou cotrimoxazole sont fortement générateurs de résistances acquises (Agence française de sécurité sanitaire des produits de Santé, 2007).

Cependant, d'autres études ont suggérés une association entre la résistance et la virulence, elle était fondée sur la présence ou l'absence des facteurs de virulence (Pitout *et al.*, 2005).

V. 3. 2. Test de sensibilité après photosensibilisation :

V. 3. 2. A. Test de diffusion en milieu gélosé :

Les résultats de ce test sont mentionnés dans le tableau VII.

Tableau VII: Charges des disques testés et les diamètres de la zone d'inhibition des souches étudiées.

Code des souches / Concentration des disques	Diamètre d'inhibition (mm)						
	K_1	K_2	K_5	E_n	S_1	E_1	E_2
1	12	10	R	10	9	11	12
0,5	10	10	R	10	7	10	11
0,25	R	9	R	10	R	9	9

Selon ces donnés on remarque que la molécule du phtalocyanine de zinc possède une activité sur les germes testés à différentes concentration sauf K_5 qui reste résistante avec les trois concentrations.

Un diamètre d'inhibition de 10 mm est noté pour *Enterobacter* vis -à-vis des trois concentrations utilisées, la même valeur est observée chez K_1, K_2 et E_1 avec la deuxième concentration (0.5 µg/ml).

V. 3. 2. B. Résultats du test d'antibiogramme automatisé :

➢ **L'antibiogramme des entérobactéries étudiées :**

Les résultats de l'antibiogramme après photosensibilisation des trois souches d'Entérobactéries sont rapportés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : L'antibiogramme d'*E.coli* *(E3)*, *E. cloacae* et *K. pneumoniae* après photosensibilisation.

souches / antibiotiques	*E. coli*		*E. cloacae*		*K. pneumonia*	
	CMI (µg/ml)	**Interprétation**	**CMI (µg/ml)**	**Interprétation**	**CMI (µg/ml)**	**Interprétation**
AMP	≥32	R	-	-	≥32	R
AMC	4	S	≥32	R	16	I
TIC	≥128	R	≥128	R	≥128	R
PIP	16	S	≥128	R	≥ 128	R
CF	16	I	≥64	R	≥ 64	R
FOX	≤4	S	≥64	R	≤4	S
CTX	≤1	S	≥64	R	≥ 64	R
CAZ	≤1	S	≥64	R	16	R
EM	≤0.5	S	-	-	≤ 0,5	S
IMP	≤0.25	S	≤0.25	R	≤ 0,25	S
AMI	≤2	S	≥64	R	≤ 2	S
GEN	≤1	S	≥16	R	≥16	R
TOB	≤1	S	≥16	R	4	S
NAL	≥32	R	≥32	R	16	S
CIP	≥4	R	≥4	R	1	S
OFX	≥8	R	≥8	R	2	S
NIT	128	R	256	R	64	I
TMP	≥320	R	≥320	R	≥320	R

Pour *E. coli*, on remarque qu'elle reste résistante à l'ampicilline, ticarcilline, acide nalidixique, ciprofloxacine, ofloxacine, nitrofurantoine, triméthoprime avec des CMI citées en ordre: ≥32 µg /ml, ≥128 µg /ml), ≥32 µg /ml, ≥4 µg /ml, ≥8 µg /ml, 128 µg /ml et ≥ 320 µg /ml.

Par contre elle montre une sensibilité à l'amoxicilline / acide clavulanique, céfalotine, céfoxitine, céftazidime, ertapénème, imipénème, amikacine, gentamicine, tobramycine avec des CMI comprises entre ≤ 0.25 µg /ml et 16 µg /ml.

Pour *K. pneumoniae*, nous avons remarqué qu'elle est sensible à l'ofloxacine avec une CMI de 2 µg /ml, ciprofloxacine avec une CMI de 1 µg /ml, acide nalidixique avec une CMI de 16 µg /ml, amikacine avec une CMI de ≤ 2 µg /ml) et tobramycine avec une CMI de 4 µg /ml.

Les résultats de la comparaison des CMI avant et après photosensibilisation d'*E.coli* sont montrés dans la figure 16.

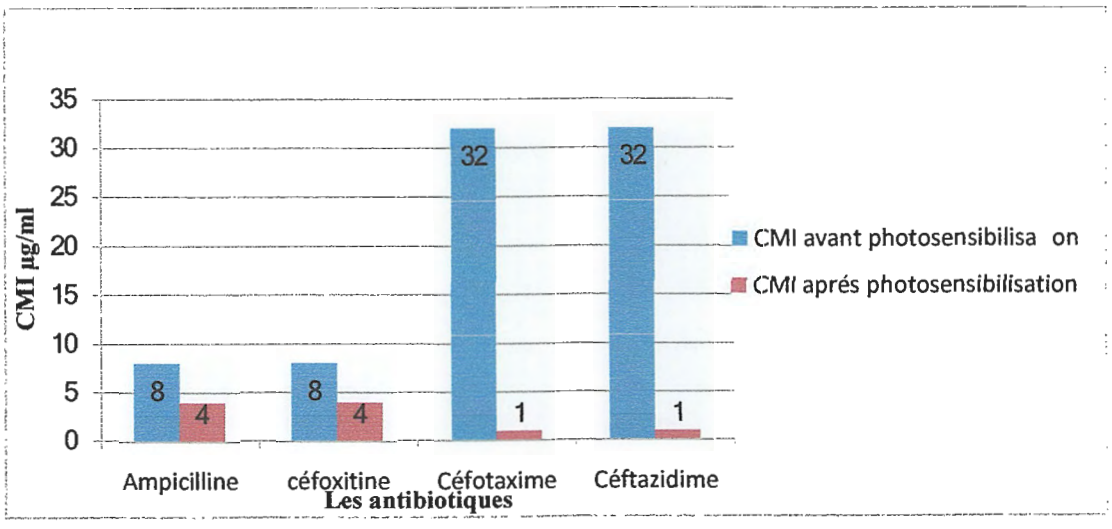


Figure 16: Résultats des CMI d'*E. coli* avant et après photosensibilisation

D'après les résultats montrés dans la figure 16, la CMI d'*E. coli* avant la photosensibilisation est relativement élevée avec des valeurs de 8µg /ml à l'ampicilline et céfoxitine et de 32µg /ml au céftazime et céfotaxime.

Après la photosensibilisation, on enregistre un effet important sur la sensibilité d'*E. coli* avec des CMI qui varient entre 4µg /ml et 1µg/ml pour les mêmes antibiotiques mentionnés vis-à-vis de la même souche testée.

Les résultats de la comparaison des CMI avant et après photosensibilisation de *K. pneumoniae* sont montrés dans la figure 17.

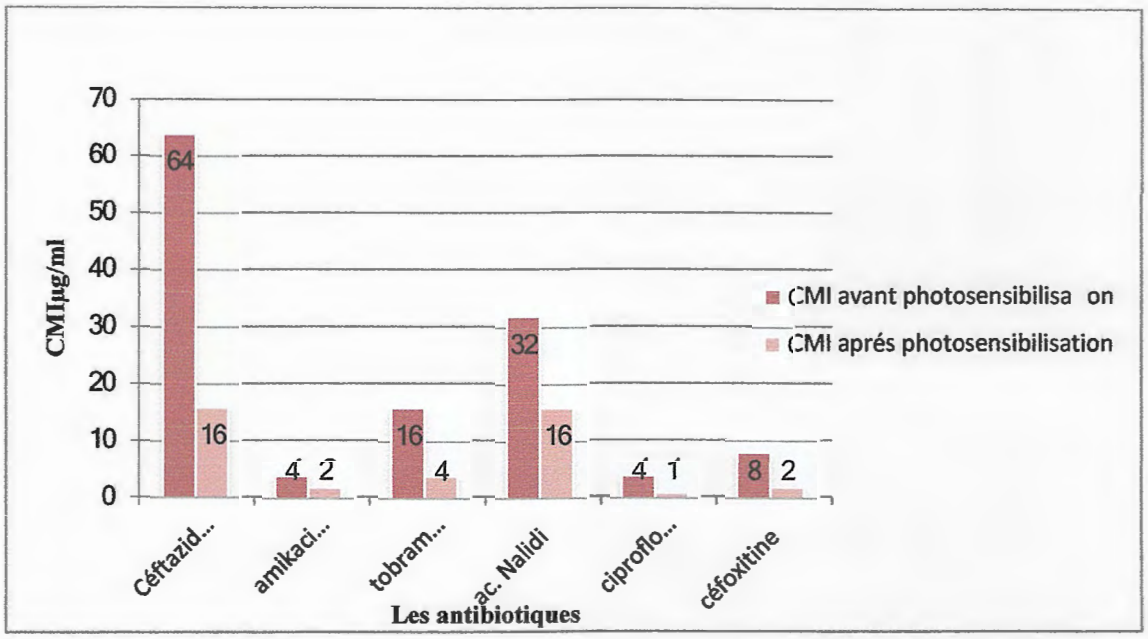


Figure 17: la CMI de *K. pneumoniae* avant et après photosensibilisation.

La CMI de *K. pneumoniae* avant photosensibilisation a des valeurs élevées. Ces valeurs sont de 64 µg /ml à céftazidime, de 4µg /ml vis-à-vis de l'amikacine , de 16µg /ml pour tobramycine, de 32µg /ml pour l'acide nalidique, de 4µg /ml pour ciprofloxacine, de 8µg /ml pour céfoxitine.

Par contre après photosensibilisation de cette souche les valeurs obtenus pour les mêmes antibiotiques testés avant photosensibilisation sont respectivement de 16µg /ml, 2µg /ml, 4µg /ml, 16µg /ml, 1µg /ml, 2µg /ml. En effet, nous notons une nette diminution des valeurs des CMI après photosensibilisation.

D'une part, selon des études (Yin *et al.*, 2015 ; Hamblin & Hasan, 2004) ; les ZnPc peuvent éliminer efficacement les bactéries par des mécanismes de destruction non spécifique (altérations dans la protéine, l'acide désoxyribonucléique (ADN) et la synthèse de l'acide ribonucléique (ARN), la paroi cellulaire et la synthèse membranaire) et même en l'absence d'agent perméabilisant.

Cette inhibition des bactéries s'accompagne également d'une baisse rapide de la consommation de glucose marquée au C_{14}. Certaines études ont révélé que la plupart des cellules traitées sont incapables d'accomplir la synthèse de leur glycocalyx et leur division cellulaire (Malik *et al.*, 1990).

D'autre part, selon (Hamblin & Hasan, 2004) l'efficacité de PS peut être améliorée par une combinaison avec un agent perméabilisant l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et peptide polycationique polymyxine B nonapeptide (PMBN).

C'est le cas probable pour la souche *E. cloacae*, où aucun changement du comportement n'a été remarqué, elle reste résistante à l'ensemble des antibiotiques testés.

D'après des études sur des bactéries Gram négatifs, le PS administré à l'aide de liposome chargé positivement peut améliorer l'efficacité et la sécurité de l'inactivation photodynamique microbienne.

On peut également augmenter l'efficacité en chargeant ZnPc dans un liposome biocompatible (Yin *et al.,* 2015).

En effet, le transporteur liposomique a un rôle majeur à désorganiser la structure native de la paroi cellulaire bactérienne et a améliorer la capacité du PS à traverser la membrane externe, conduisant à une pénétration plus profonde du PS dans la membrane plasmique.

Leur mode d'administration basée sur l'association du ZnPc à la partie lipidique des lipoprotéines ainsi le liposome s'insert à des lipoprotéines.

L'explication possible suggérée par d'autre auteurs (Nunes *et al.*, 2004 ; Rodal *et al.*, 1998) est que le ZnPc transfert rapidement des liposomes aux lipoprotéines qui est ensuite adsorbé au niveau des cellules comme complexe avec les lipoprotéines.

- **L'antibiogramme des staphylocoques :**

Les résultats de l'antibiogramme automatisé après photosensibilisation des souches de staphylocoque sont rapportés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de l'antibiogramme des souches de staphylocoque après la photosensibilisation.

Souches / antibiotique	*Staphylococcus saprophyticus*		*Staphylococcus lentus*	
	CMI	**interprétation**	**CMI**	**Interprétation**
Test FOX screen	NEG	-		
PG	≥0.5	R	≥0.5	R
Oxa	≥4	R	≥4	R
GEN	≤0.5	S	≤0.5	S
K	≤4	S	≤4	S
TOB	≤1	S	≤1	S
OFX	1	S	1	S
R .inductible a CM	NEG	-	NEG	-
EM	≥8	R	≥8	R
Lin	≤1	S	≥16	R
PT	2	S	2	I
TEC	4	S	4	S
VA	1	S	1	S
TET	≤1	S	≤1	S
FOS	≥128	R	≥128	R
NIT	≤16	S	≤16	S
FD	8	I	8	I
RIF	≥4	R	≥4	R
TMP	≤10	S	≤10	S

A partir des résultats, on remarque que les souches des staphylocoques montrent une résistance aux benzylpénicilline avec une concentration de ≥ 0.5 µg /ml, à l'oxacilline avec une CMI de ≥ 4 µg /ml, à l'érythromycine avec une CMI de ≥ 8 µg /ml, à la fosfomycine avec une CMI de ≥ 128 µg /ml, rifampicine avec une CMI de ≥ 4 µg /ml.

D'autre part, on remarque que *S. saprophyticus* a montré une sensibilité aux lincomycine avec une CMI de ≤1 µg /ml, aux pristinamycine avec une CMI de 2 µg /ml, aux teicoplanine avec une CMI de 4 µg /ml, aux vancomycine avec une CMI de 1 µg /ml, aux nitrofurantoine avec une CMI de ≤16 µg /ml.

Une comparaison entre les résultats avant et après photosensibilisation est représentée dans la figure 18.

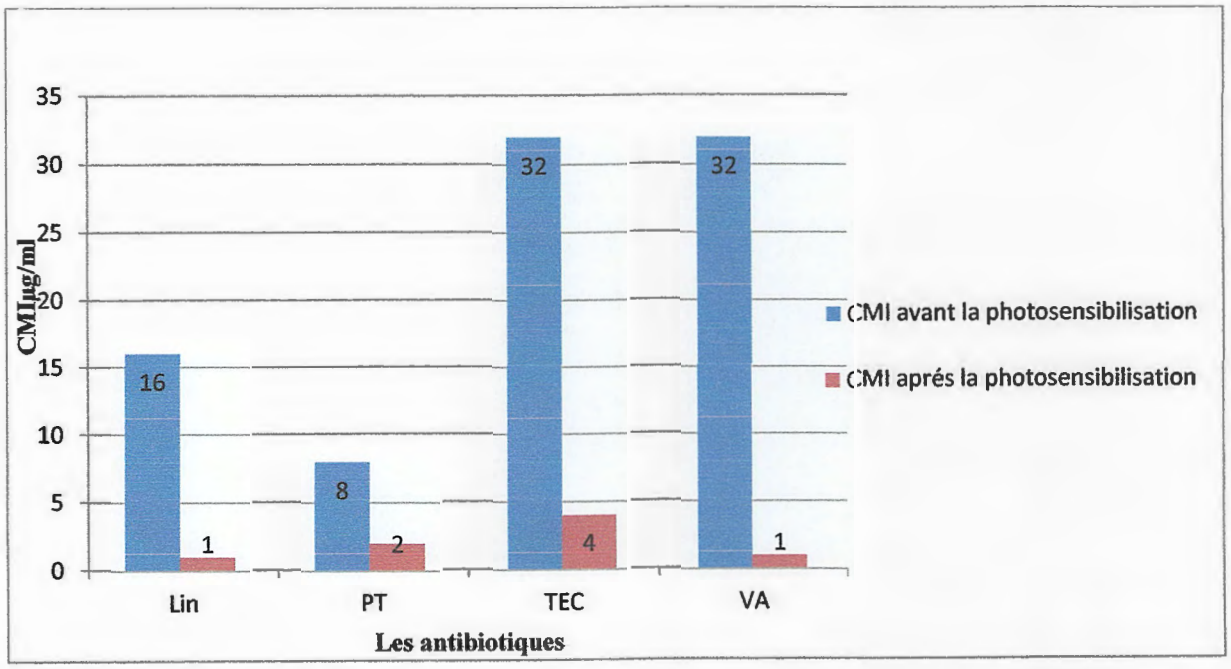


Figure 18: la CMI de *Staphylococcus saprophyticus* avant et après photosensibilisation.

Les CMI de *S. saprophyticus* avant photosensibilisation présentent des valeurs élevées; de 16µg/ml à lincomycine, de 8µg/ml pour pristinamycine, et de 32µg/ml aux tétramycine et vancomycime.

Après photosensibilisation elle diminue à de basses valeurs respectivement aux mêmes antibiotiques avec des CMI respectives de 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml et 1µg/ml.

Les différences des valeurs des CMI de *Staphylococcus lentus* avant et après photosensibilisation sont illustré dans la figure 19.

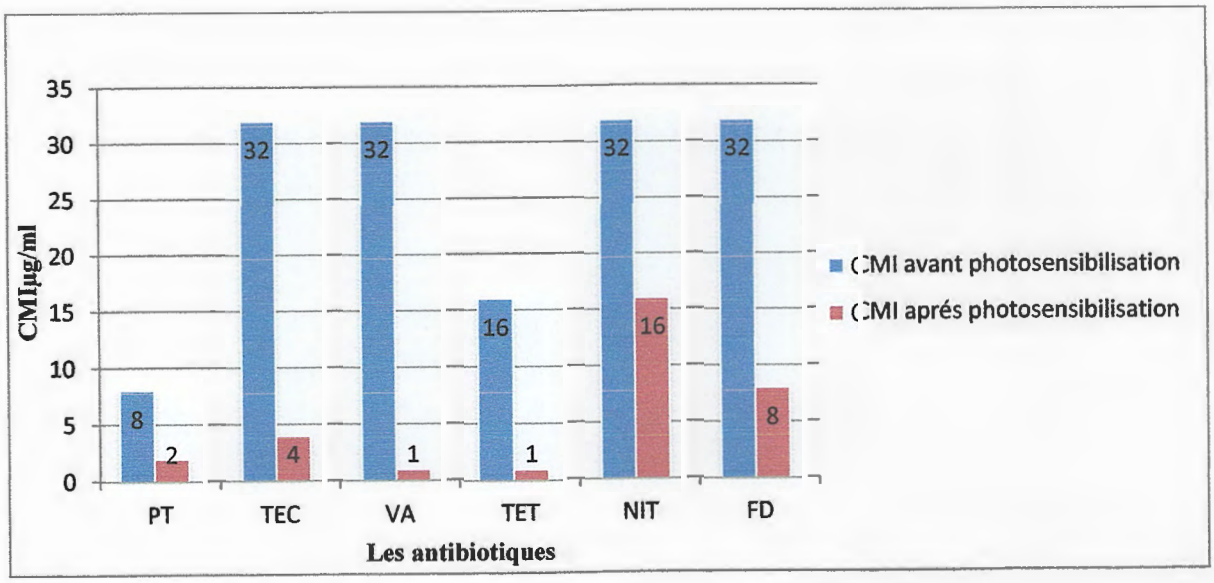


Figure 19: la CMI de *Staphylococcus lentus* avant et après photosensibilisation.

Les CMI de *S. lentus* avant photosensibilisation montre des valeurs élevées. Ces valeurs sont de 8µg /ml à la pristinamycine, de 16 µg/ml pour tétracycline, de 32µg/ml aux téicoplanine, vancomycine, nitrofurantoine et acide fusidique.

Après la photosensibilisation, on note une diminution des valeurs des CMI de 2µg/ml pour pristinamycine, de 1µg/ml pour tétracycline, de 4µg/ml pour téicoplanine, de 1µg/ml pour vancomycine, de16 µg/ml pour nitrofurantoine et de 8µg/ml pour l'acide fusidique.

D'après les résultats motionnée dans tableau IX, figure18 et figure19, on remarque une diminution nette de la CMI chez les Gram positifs après photosensibilisation. L'efficacité de ce processus est due probablement à la morphologie bactérienne.

D'après (Yin *et al.* 2016 ; Malik *et al.*, 1992 ; Ke, 2014), la présence d'une paroi cellulaire des bactéries Gram positifs composée principalement d'une épaisse couche de peptidoglycane poreuse intégré avec des protéines et l'acide lipotécoique, permettrait au PS de passer facilement au cytoplasme, de plus l'acides lipotecoïques chargés négativement à l'extérieur contribuent à la liaison de ZnPc cationique.

Selon (Quincampoix & Mainardi, 2001; Malik *et al.,* 1990), les antibiotiques agissent de manière spécifique sur les bactéries en bloquant une étape essentielle de leur développement contrairement au PS qu'ils endommagent ou détruisent les cellules bactériennes d'une manière non spécifique.

L'explication probable de nos résultats obtenus est que :

- Le ZnPc peut améliorer l'accès de l'antibiotique.
- le ZnPc peut altérer soit la protéine enzymatique (comme un enzyme inactivant antibiotique), soit son ARN_m ou bien les deux ensembles.

On conclue que les ZnPc ont été testés avec succès contre les bactéries Gram positifs et Gram négatifs ce qui nous permet d'avancer que l'action de la photosensibilisation est efficace sur l'inactivation de la résistance bactérienne.

Des auteurs ont rapportés que des autres micro-organismes pathogènes peuvent avoir une action efficace après phénomène de photosensibilisation y compris des levures, des champignons et des parasites pathogènes humains (Hamblin & Hasan, 2004).

CONCLUSION

L'augmentation progressive des souches résistantes aux antibiotiques a suscité un grand intérêt pour les recherches sur d'autres stratégies antibactériennes.

Actuellement, l'inactivation photodynamique des microorganismes (IPD) est la direction la plus prometteuse pour la destruction de diverses bactéries.

Nous nous sommes intéressé dans cette étude à étudier l'effet duphtalocyanine de zinc sur la résistance des bactéries responsables des infections urinaires.

Dans notre étude, nous avons réalisé une série de tests sur différents germes isolées *E. coli, K. pneumonia, Entérobactercloacae* et des staphylocoques, dont l'espèce bactérienne le plus fréquemment rencontré est *E. coli*.

A partir de nos résultats, nous remarquons que la tranche d'âge entre 50 et 70 ans est la tranche la plus touchée et que le sexe féminin est plus dominant (68% des cas) que le sexe masculin.

A partir des tests d'antibiogramme et les différentes valeurs de CMI obtenues, nous remarquons que les germes isolées ont montré une résistance à la plus part des antibiotiques. Pour les entérobactéries, elles présentent une résistance à la plus part des βéta-lactamines, des aminosides, des quinolones et des sulfamides avec des concentrations minimales inhibitrices comprises entre ≥4 µg /ml et ≥ 320 µg /ml.

Pour les staphylocoques, elles ont montré une résistance aux aminosides, aux macrolides, aux glycopeptides et à la fosfomycine avec des concentrations minimales inhibitrices comprise entre ≥0.5 µg /ml et ≥ 128µg /ml.

D'autre part, on a évalué les différentes concentrations minimales inhibitrices des mêmes souches après test de photosensibilisation par la phtalocyanine de zinc.

Nous constatons une différence de comportement des germes vis-à-vis des antibiotiques. En effet, une nette diminution des valeurs des CMI ont été observé. Ces valeurs sont comprises entre ≤ 0,25 µg/ml et 16µg/ml.

D'après nos résultats obtenus, nous concluons que la phtalocyanine de zinc à une bonne activité antibactérienne sur la plus part des germes étudiés.

Vu le problème que pose actuellement l'utilisation excessif des antibiotiques dont la conséquence se répercute sur l'échec thérapeutique à cause des résistances à ces antibiotiques, la photosensibilisation pourrait présenter de grandes perspectives comme méthode antibactérienne à large spectre.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Adamski, H. (2008).** La photothérapie dynamique topique. *Côlon & Rectum*, *2*(3), 145-148.
- **Agence française de sécurité sanitaire des produits de Santé. (2007).** Diagnosis and antibiotherapy for community acquired bacterial urinary infections in infants and children. *Médecineet maladies infectieuses*, *37*(10), 645.
- **Akkaya, N., Bilgiçli, A. T., Aytekin, A., Yarasir, M. N., &Kandaz, M. (2015)**. Novel metal (III) and metal free soft phthalocyanine metal ion sensors bearing (1-hydroxyhexan-3-ylthio)-substituents: Synthesis, characterization, aggregation behavior. *Polyhedron*, *85*, 857-863.
- **Arsalane, L., Kamouni, Y., Yahyaoui, H., Bennouar, N., Berraha, M., &Zouhair, S. (2014).** Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*uropathogènes et conséquences thérapeutiques. *Progrès en urologie*, *24*(16), 1058-1062.
- **Ascencio, M., Collinet, P., Cosson, M., Vinatier, D., &Mordon, S. (2007).** Intérêt et place de la thérapie photodynamique en gynécologie. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, *35*(11), 1155-1165.
- **Archambaud, M. (2000).** Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques. *Réanimation Médicale,1 :1-10.*

B

- **Barberi-Heyob, M., Frochot, C., Bezdetnaya-Bolotine, L., Brault, D., Dumas, D., Guillemin, F.,Krausz, P., Maillard, P., Maunit, B., Merlin, J.-L., Mordon, S., Muller, J.-F., Patrice, T., Simonneaux, G., &Tanielian, G.(2007).**La thérapie photodynamique.*Actualite Chimique*, *308*, 26, 2-10.
- **Baudoux, D. (2000).** *L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles*. Ed. Amyris.
- **Bergogne-Bérézin, E. (2006).** Antibiothérapie des infections urinaires basses: bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. *Antibiotiques*, *8*(1), 51-62.
- **Bergogne-Berezin, E., Thabaut, A., Durosoir, M. J., Berthelot, G., &Courtoux, D. (1978).** L'antibiogramme automatique. *Médecine et Maladies Infectieuses*, *8*(1), 15-19.
- **Bléry, M., Bléry-Krissat, M., Hammoudi, Y., & Rocher, L. (2006).** Pathologie infectieuse du haut appareil urinaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale.
- **Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Sklia, N. S., &Abrinia, J. (2005).**L'effet antibactérien in vitro de l'huile essentielle d'origanumcompactum vis a vis de souches d'origine clinique. *nouvelles tendances dans l'ingénierie Biomédicale*, *11*, 142-149.
- **Boyer, J. (2001).** La thérapie photodynamique. *Acta endoscopica*, *31*(4), 561-566.
- **Bruyère, F., Cariou, G., Boiteux, J. P., Hoznek, A., Mignard, J. P., Escaravage, L., &Coloby, P. (2008).** Généralités. *Progrès en urologie*, *18*, 4-8.

- **Burnichon, N., & Texier, A. (2003).** L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques. *DES bactériologie–Semestre été.*

C

- **Camille, D. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contôle sanitaire.
- **CA-SFM. (2008)** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
- **CA-SFM. (2010)** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
- **Cavallo, J. D., &Garrabé, E. (2003).** Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN): analyse critique. *Médecine et maladies infectieuses*, *33*(9), 447-456.
- **Chen, Z., Zhang, Y., Wang, D., Li, L., Zhou, S., Huang, J. H., ...& Huang, M. (2016).** Photodynamic antimicrobial chemotherapy using zinc phthalocyanine derivatives in treatment of bacterial skin infection. *Journal of biomedical optics*, *21*(1), 018001.
- **Colin, P., Estevez, J. P., Betrouni, N., Ouzzane, A., Puech, P., Leroy, X., ... &Mordon, S. (2011).** Thérapie photodynamique et cancer de la prostate. *Progrès en urologie*, *21*(2), 85-92.

D

- **Delcaru, C., Alexandru, I., Podgoreanu, P., Grosu, M., Stavropoulos, E., Chifiriuc, M. C., &Lazar, V. (2016).**Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. *Pathogens*, *5*(4), 65.
- **Dellamonica, P., Drugeon, H. B., Bernard, E., &Beziau, H. (1986).**Bases pharmacologiques et expérimentales de l'utilisation en clinique. Résultats thérapeutiques des nouvelles bêta-lactamines dans les infections urinaires. *Médecine et Maladies Infectieuses*, *16*(11), 707-714.
- **Dougherty, T. J., &Mang, T. S. (1987).**Characterization of intra-tumoralporphyrin following injection of hematoporphyrin derivative or its purified component. *Photochemistry and photobiology*, *46*(1), 67-70.
- **Dunand, O., Ulinski ,T., Bensman , A.(2008).** Infections urinaires de l'enfant. EMC pédiatrie, 4-085-A-10

E

- **El Bakkouri, J., Belabbes, H., Zerouali, K., Belaiche, A., Messaouidi, D., & El Mdaghri, N. (2009).**Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). European Journal of ScientificResearch. *ISSN*, 49-50.
- **Elkharrat, D., Arrouy, L., Benhamou, F., Dray, A., Grenet, J., &Corre, A. L. (2007).**Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. *Les infections urinaires*, 1-20.

- **Émile, C. (2011).** Les pièges de l'interprétation de l'ecbu. *Option/Bio*, *22*(460), 19-21.
- **Eyquem, A., Alouf, J., & Montagnier, L. (Eds.). (2005).** *Traité de microbiologie clinique*. PICCIN.(pp . 153).

F

- **Ficheux, H. (2009, January).** Principes et applications thérapeutiques de la photothérapie dynamique. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 67, No. 1, pp. 32-40). Elsevier Masson.
- **Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., &Hultgren, S. J. (2015).** Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviewsmicrobiology*, *13*(5), 269-284.
- **Frochot, C., Barberi-Heyob, M., Blanchard-Desce, M., Bolotine, L., Bonneau, S., Chiara, M., ... & Maillard, P. (2015).** La thérapie photodynamique: état de l'art et perspectives. *L'Actualité Chimique*, (397-398), 46-50.

G

- **Garcia, G., & Maillard, P. (2013).** La lumière pourrait-elle traiter le cancer par interactions «lumière-vivant»?. *Photoniques*, (64), 43-46.
- **Garcia, G., Maillard, P., Mispelter, J., Poyer, F., & Thomas, C. D. (2017).** La lumiére pourrait-elle traiter le cancer par interactions lumiére-vivant?-De la molécule à la tumeur. *Photoniques*, (85), 17-22.
- **Gattegno, B., & Chopin, D. (2001).** Thérapie photodynamique. *Progrès en urologie*, *11*(5), 1117-1124.
- **Gayral, J. P., Cluzel, R., MIERMONY, C., Pons, M., Bismuth, R., Bazire, B., ...& DAUGET, G. (1984).** Test sensibilité aux antibiotiques. Etude multicentrique comparative de la méthode de diffusion en gélose et de la méthode ATB. *Path. Biol*, *32*(5), 347-350.
- **González-Delgado, J. A., Kennedy, P. J., Ferreira, M., Tomé, J. P., &Sarmento, B. (2015).** Use of Photosensitizers in Semisolid Formulations for Microbial Photodynamic Inactivation: Miniperspective. *Journal of medicinal chemistry*, *59*(10), 4428-4442.

H

- **Hamblin, M. R. (2016).** Antimicrobial photodynamic inactivation: A bright new technique to kill resistant microbes. *Current Opinion in Microbiology*, *33*, 67-73
- **Hamblin, M. R., &Hasan, T. (2004).** Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?. *Photochemical &Photobiological Sciences*, *3*(5), 436-450.
- **Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., &Koski, P. (1997).**Polyethyleneimine is an effective permeabilizer of gram-negative bacteria. *Microbiology*, *143*(10), 3193-3199.

- **Hickling, D. R., Sun, T. T., & Wu, X. R. (2015).** Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. *Microbiology spectrum*, *3*(4).
- **Howard, AJ., Magee, JT., Fitzgerald, KA., Dunstan, FD. (2001).** Factors associated with antibiotic resistance in coliform organisms from community urinary tract infection in Wales. J AntimicrobChemother; 47:305–13.
- **Huang, L., Terakawa, M., Zhiyentayev, T., Huang, Y. Y., Sawayama, Y., Jahnke, A., ...& Hamblin, M. R. (2010).** Innovative cationic fullerenes as broad-spectrum light-activated antimicrobials. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *6*(3), 442-452

J

- **Jacques, E., Philippe, D., Jean-Marc, C., & Jean-Christophe, L. (2011).** La photothérapie dynamique en cancérologie digestive
- **Jori, G., Fabris, C., Soncin, M., Ferro, S., Coppellotti, O., Dei, D., ... &Roncucci, G. (2006).** Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers in surgery and medicine*, *38*(5), 468-481.

K

- **Ke, M. R., Eastel, J. M., Ngai, K. L., Cheung, Y. Y., Chan, P. K., Hui, M., ... & Lo, P. C. (2014).** Photodynamic inactivation of bacteria and viruses using two monosubstituted zinc (II) phthalocyanines. *European journal of medicinalchemistry*, *84*, 278-283.
- **Khalifa, A. B. H., &Khedher, M. (2010).**Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire taharsfar de MAHDIA. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, *4*(2), 60.

L

- **Landraud, L., Doye, A., Buisson-Touati, C., Boquet, P., &Lemichez, E. (2003).** L'activation/dégradation protéasomique des gtpasesRho par CNF1 confère des capacités invasives aux E. Coli uropathogènes. *Médecine/sciences*, *19*(4), 403-405.
- **Larabi, K., Masmoudi, A., &Fendri, C. (2003).** Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*, *33*(7), 348-352.
- **Lauro, F. M., Pretto, P., Covolo, L., Jori, G., &Bertoloni, G. (2002).**Photoinactivation of bacterial strains involved in periodontal diseases sensitized by porphycene–polylysine conjugates. *Photochemical &Photobiological Sciences*, *1*(7), 468-470.
- **Leanne, B. J., & Ross, W. B. (2012).** Unique diagnostic and therapeutic roles of porphyrins and phthalocya-nines in photodynamic therapy, imaging and theranostics.

- **Leclercq, R. (2002, May).** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 21, No. 5, pp. 375-383). Elsevier Masson.
- **Lee, J. B., &Neild, G. H. (2007).** Urinary tract infection. *Medicine*, *35*(8), 423-428.
- **Lobel, B., &Soussy, C. (Eds.). (2007).** *Les infections urinaires*. Springer Science & Business Media.

M

- **Malik, Z., Hanania, J., &Nitzan, Y. (1990).** New trends in photobiology bactericidal effects of photoactivatedporphyrins—An alternative approach to antimicrobial drugs. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *5*(3-4), 281-293.
- **Malik, Z., Ladan, H., &Nitzan, Y. (1992).** Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *14*(3), 262-266
- **Mcdonald, L. C., Chen, F. J., Lo, H. J., Yin, H. C., Lu, P. L., Huang, C. H., ...& Ho, M. (2001).** Emergence of Reduced Susceptibility and Resistance to Fluoroquinolones in Escherichia coliin Taiwan and Contributions of Distinct Selective Pressures. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *45*(11), 3084-3091.
- **Mettraux, G., &Hüsler, J. (2011).** Application transgingivale de la thérapie photodynamique (TPD) antibactérienne en complément au curetage et surfaçage radiculaire. *SchweizerischeMonatsschriftfürZahnmedizin*, *121*(1), 61.
- **Moinard, D. (1987).** Examen cytobactériologique des urines (ECBU) chap. 8 in Bactériologie médicale techniques usuelles: Carbonnelle B. *Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R., SIMEP Ed. Paris.*

N

- **Nicolle, L. E. (2011).** Update in adult urinary tract infection. *Current infectious disease reports*, *13*(6), 552.
- **Nison, L., Bozzini, G., Rouprêt, M., Traxer, O., & Colin, P. (2014).** Diagnostics clinique, urétéroscopique et photodynamique des tumeurs de la voie excrétrice urinaire supérieures: état-de-l'art pour le rapport scientifique annuel de l'Association française d'urologie. *Progrès en urologie*, *24*(15), 977-986.
- **Nunes, S. M. T., Sguilla, F. S., &Tedesco, A. C. (2004).** Photophysical studies of zinc phthalocyanine and chloroaluminumphthalocyanine incorporated into liposomes in the presence of additives. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *37*(2), 273-284.

O

- **Oniszczuk, A., Wojtunik-Kulesza, K. A., Oniszczuk, T., &Kasprzak, K. (2016).** The potential of photodynamic therapy (PDT)—Experimental investigations and clinical use. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *83*, 912-929.
- **Oteo, J., Campos, J., &Baquero, F. (2002).**Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of Escherichia coli in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). *Journal of AntimicrobialChemotherapy*, *50*(6), 945-952.

P

- **Pagés, J. M., &Garnotel, E. (2003).** Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif. *Revue française des laboratoires*, *2003*(352), 57-63.
- **Pagès, J. M. (2004).** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Médecine/sciences*, *20*(3), 346-351.
- **Paronyan, M. H. (2014).**Photoinactivation of gram-positive and gram-negative microorganisms by cationic porphyrins. *Հայաստանիկենսաբանական հանդես Biological Journal of Armenia Биологическийжурналармении*, *66*(3), 54-57
- **Perni, S., Prokopovich, P., Pratten, J., Parkin, I. P., & Wilson, M. (2011).** Nanoparticles: their potential use in antibacterial photodynamic therapy. *Photochemical &Photobiological Sciences*, *10*(5), 712-720
- **Pitout, J. D., Laupland, K. B., Church, D. L., Menard, M. L., & Johnson, J. R. (2005).** Virulence factors of Escherichia coli isolates that produce CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *49*(11), 4667-4670.
- **Poilane, I., Bert, F., Cruaud, P., Nicolas-Chanoine, M. H., & Collignon, A. (2007).** Évaluation de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé pour le dépistage de souches de *Clostridium difficile* de sensibilité diminuée aux antibiotiques. *Pathologie Biologie*, *55*(8), 429-433.
- **Puech, P., Lagard, D., Leroy, C., Dracon, M., Biserte, J., & Lemaitre, L. (2004).** Place de l'imagerie dans les infections du tractus urinaire de l'adulte. *Journal de Radiologie*, *85*(2), 220-240.

Q

- **Quincampoix, J. C., &Mainardi, J. L. (2001).** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*, *10*(3), 267-275.

R

- **Roberts, J. A. (1991).** Etiology and pathophysiology of pyelonephritis. *American Journal of Kidney Diseases*, *17*(1), 1-9.

- **Rodal, G. H., Rodal, S. K., Moan, J., & Berg, K. (1998).** Liposome-bound Zn (II)-phthalocyanine. Mechanisms for cellular uptake and photosensitization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *45*(2-3), 150-159.

S

- **Sautenet, B., Barbet, C., Büchler, M., & Bruyère, F. (2010).** Infections urinaires et antibiothérapie chez l'insuffisant rénal. *Progres en Urologie-FMC*, *20*(3), F85-F89.
- **Sekhsokh, Y., Chadli, M., & El Hamzaoui, S. A. (2008)**. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine et maladies infectieuses*, *38*(6), 324-327.

T

- **Tortora, G. J., &Derrickson, B. (2017).** *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. De Boeck Superieur.
- **Touaiti, S., Hajri, A., Kahouech, M. S., Khiari, J., &Jamoussi, B. (2013)**. Synthesis and characterization of new Zn-phtalocyanine-based semi-conducting materials. *Arabian Journal of Chemistry*.
- **Tuchin, V. V. (2016)**. Tissue Optics and Photonics: Light-Tissue Interaction II. *Journal of BiomedicalPhotonics& Engineering*, *2*(3), 030201.
- **Tylcz, J. B. (2013)**. *Identification et contrôle de systèmes biologiques. Application à la thérapie photodynamique* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

W

- **Wainwright, M., Stanforth, A., Jones, R., Loughran, C., &Meegan, K. (2010).**Photoantimicrobials as a potential local approach to geriatric utis. *Letters in applied microbiology*, *50*(5), 486-492.

Y

- **Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., &OuarKorich, M. N. (2001).**Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, *91*(1).
- **Yin, R., Agrawal, T., Khan, U., Gupta, G. K., Rai, V., Huang, Y. Y., & Hamblin, M. R. (2015)**. Antimicrobial photodynamic inactivation in nanomedicine: small light strides against bad bugs. *Nanomedicine*, *10*(15), 2379-2404.

Annexe 01 : Spectre antibactérien des principales familles d'antibiotiques en milieu hospitalier basé sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques (de 2005 à 2008).

MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

DIRECTION DE LA PREVENTION - RESEAU ALGERIEN DE LA SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

Spectre* antibactérien des principales familles d'antibiotiques en milieu hospitalier basé sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques (de 2005 à 2008)

Antibiotiques		Aérobies Gram +										Aérobies Gram -																						Anaérobies							Autres			Antibiotiques
FAMILLES	DCI	*Enterococcus faecalis*	*Enterococcus faecium*	*Listeria monocytogenes*	*Staphylococcus aureus*	*Staph. bovis*	Streptocoques du groupe A	Streptocoques du groupe B	Streptocoques du groupe C et G	*Streptococcus pneumoniae*	*Streptococcus mitis*	*Acinetobacter baumannii*	*Bordetella pertussis*	*Moraxella catarrhalis*	*Citrobacter freundii*	*Citrobacter koseri*	*Enterobacter aerogenes*	*Enterobacter cloacae*	*Escherichia coli*	*Haemophilus influenzae*	*Klebsiella oxytoca*	*Klebsiella pneumoniae*	*Morganella morganii*	*Neisseria gonorrhoeae*	*Neisseria meningitidis*	*Proteus mirabilis*	*Proteus vulgaris*	*Providencia rettgeri*	*Providencia stuartii*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella Typhi*	*Serratia marcescens*	*Shigella flexneri*	*Stenotrophomonas maltophilia*	*Bacteroides fragilis*	*Clostridium difficile*	*Clostridium perfringens*	*Fusobacterium nucleatum*	*Peptostreptococcus* spp.	*Prevotella* spp.	*Propionibacterium acnes*	*Corynebacterium diphtheriae*	*Vibrio cholerae Eltor*	*Brucella* spp.	DCI
PENICILLINES	Benzylpénicilline	10%	7%					23%																																				Benzylpénicillines
	Ampicilline		50%					10%											71.2%	22.3%							67%											15%						Ampicilline
	Amoxicilline																		71.8%								65%											15%						Amoxicilline
	[illegible]															17.8%			18.4%		28.5%	30.1%					18.8%	42.6%																	[illegible]
	Oxacilline				50%	50%																																						Oxacilline
	Ticarcilline											75.7%			38%			48.7%	62%							55.7%	42%			19.3%		50.3%			25%									Ticarcilline
	Pipéracilline											78.5%						46.4%	53%		58%	62.5%				43%	34%			16.3%		34.1%			60%									Pipéracilline
	[illegible]											60%																		18.6%				21.6%										[illegible]
CEPHALOSPORINES	Céfalexine																																											Céfalexine
	Céfalotine															31.5%			49%			73%																						Céfalotine
	Céfazoline																		24%		41.4%	52%				38%																		Céfazoline
	Céfoxitine				21%	35%										48%			19.9%		33%	56%	16%			56%	46%	11.6%	8.7%			20.2%			35%									Céfoxitine
	Céfépime																																											Céfépime
	Céfixime																		4.3%																									Céfixime
	Céftriaxone																		1%			24.6%				18.4%																		Céftriaxone
	Céfoperazone																		11%			47.8%				29.7%	11.7%																	Céfoperazone
	Céfotaxime														32%	14.6%	31.6%	39%	7.6%		24.3%	34.5%	24%			9.1%	11.7%	12%	16.0%			33.9%													Céfotaxime
	Céftriaxone														42			36%	10%		24%	44.7%	21%			9.6%	27.1%					40%													Céftriaxone
	Céfpirome																																											Céfpirome
	Céftazidime											71%						45%	9.6%		38.6%	23%	33.6%			11.9%	12.9%			10.5%		33.8%													Céftazidime
CARBAPENEMES	Imipenème											18%						0.2%	0.1%		0.1%	1.3%	0.6%			0.5%	0.2%			10.3%															Imipenem
MONOBactAMES	Aztréonam																													0.4%															Aztreonam
AMINOSIDES	Amikacine				16.7%	17.6%						57%			13%	17.8%	18%	16.2%	3.7%		15.1%	26%	14.7%			8.9%	7.3%	22%	39%	6.2%		14.2%													Amikacine
	Netilmicine																				15.9%	26.6%	14.0%			12.2%	9.6%			12.8%															Netilmicine
	Gentamicine				18.[illegible]	[illegible]						78%			52%	16.3%	11%	34.[illegible]	10%		29.8%	42.5%	38.[illegible]			17.6%	26.6%	36.7%		13.1%		36.6%													Gentamicine
	Tobramycine				21.1%	33.5%						50%						3.5%	14.7%		18.6%	48.9%	41.4%			23.7%	17.1%			10.9%		40%													Tobramycine
	Spectinomycine																																											Spectinomycine
	Streptomycine																																											Streptomycine
CYCLINES	Doxycycline		70%		46.2%	36.5%	47%		42.5%										62.8%		48.1%	46.4%														65%		12%		19%	8%				Doxycycline
	Tétracycline																																											Tétracycline
PHENICOLES	Chloramphénicol	19%			2.8%	11.9%		25%							13.6%		25%	15.7%	12.4%		14.7%	17%	38.4%			39.9%	32.5%	60%	66%			7.3%													Chloramphénicol
MACROLIDES	Azithromycine																																											Azithromycine
	Erythromycine	54%	7%		25.7%	47%	25%	21.1%	40.8%																											46%		15%		47%	16%	10%		Erythromycine
	Spiramycine				16.5%	15.1%																																						Spiramycine
	Clindamycine				10.5%	15%																														25%		12%		34%	16%	10%		Clindamycine
	Lincomycine				19.2%	19.3%																																						Lincomycine
	Pristinamycine																																											Pristinamycine
GLYCOPEPTIDES	Teicoplanine				0.[illegible]																																							Teicoplanine
	Vancomycine	1.4%	3.5%																																									Vancomycine
QUINOLONES	Ac nalidixique														25%		6%	13.2%	19%		11.9%	14.6%	56.6%			34.1%	17.9%					13.8%													Ac nalidixique
	Ciprofloxacine				13.8%	10.8%						40.8%			11%			3.6%	12.7%		11.9%	10.5%	6.4%			7.1%	7.2%			7.3%		4.8%		10%											Ciprofloxacine
	Lévofloxacine	2.9%			13.3%																																							Lévofloxacine
	Ofloxacine	48%			16.5%	16.5%									10.9%	2.[illegible]	6.7%	4.9%	12.8%		9.3%	9.4%	18.[illegible]			12.4%	10.3%	10.7%	17%	12.9%		2.9%		12.1%											Ofloxacine
POLYMYXINES	Colistine																					0.9%																						Colistine
[illegible]	[illegible]	9.1%	66%		41.3%	50.7%						46%			39.5%	27%	32.3%	46%	48.4%		47.7%	57%	67.6%			48%	54.6%	67%	62%			36.9%													Nitrofurantoïne
NITROFURANES	Nitrofurane	11.8%			8.[illegible]	[illegible]											45%	47.5%	9.7%		25.2%	29%																						Métronidazole
	Métronidazole																																											Ordinazole
	Ordinazole																																											Tinidazole
	Tinidazole																																											Fosfomycine
DIVERS	Fosfomycine				7.9%	27.4%									5.6%			14.9%	2.7%		14.8%	35%				13%	35%			52%		22.8%													Acide fusidique
[illegible]	Acide fusidique				42.[illegible]	56.4%																																						Rifampicine
[illegible]	Rifampicine	81%	50%		[illegible]	12.6%																																						

Espèce [illegible]ement sensible

Espèce [illegible]ement sensible (antibiogramme recommandé)

Espèce naturellement résistante (ou présentant plus de 80% de résistance)

Antibiotique non testé ou non indiqué pour l'espèce

* Il existe des variations entre les hôpitaux et entre les services

[illegible] pourcentages [illegible] résistance

Structures des laboratoires participants: Institut Pasteur d'Algérie - CHU Mustapha - CHU Bab El Oued - CHU H Dey - CHU Beni Messous - CHU Blida - CHU Tizi Ouzou - CHU Setif - CHU Oran - CHU Constantine - CHU Annaba - CHU Batna - HCA - CPMC - EHS El Kettar - EHS MA Mohamed

POSTER PREPARE PAR Dr TALI-MAAMAR Hassiba

Annexe 02 : Résultats d'antibiogramme automatisé de certaines souches avant photosensibilisation

❖ **La CMI des germes d'*E. coli* ayant une résistance aux antibiotiques.**

Souches	(E_1)		(E_2)		(E_3)		(E_4)		(E_5)		(E_6)	
ATB	CMI	Interp-rétation	CMI	Interp-rétation	CMI	Interp-rétation	CMI	Interp-rétation	CMI	Interp-rétation	CMI	Interp-rétation
AMP	≥32	R	≥32	R	≥32	R	≥32	R	≥32	R	≥32	R
AMC	≥32	R	4	S	8	S	4	S	≥32	R	≥32	R
TIC	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥128	R
PIP	≥128	R	TRM	-	16	S	8	S	≥128	R	64	I
CF	≥64	R	16	I	16	R	≥64	R	32	R	≥64	R
FOX	16	I	≤4	S	8	S	32	R	≤4	S	≥64	R
CTX	4	R	≤1	S	32	R	≤1	S	≤1	S	≥64	R
CAZ	4	R	≤1	S	32	R	≤1	S	≤1	S	≥64	R
ERT	≤0.5	S	≤0.5	S	≤0.5	S	≤0.5	S	≤0.5	S	≤0.5	S
IMP	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25	S	1	S
AMI	4	S	≤2	S	≤2	S	≤2	S	≤2	S	16	S
GEN	≥16	R	≤1	S	≤1	S	≥16	R	≥16	R	≥16	R
TOB	8	I	≤1	S	≤1	S	≥16	R	8	I	≥16	R
NAL	≥32	R	≤2	S	≥32	R	≥32	R	4	S	≥32	R
CIP	≥4	R	≤0.25	S	≥4	R	≥4	R	≤0.25	S	≥4	R
OFX	≥8	R	≤0.25	S	≥8	R	≥8	R	≤0.25	S	≥8	R
NIT	≤16	S	128	R	128	R	64	I	≤16	S	≥16	S
TMP	≥320	R	≤20	S	≥320	R	≥320	R	≥320	R	≥320	R

❖ **La CMI de quelque souche d'enterobacterie ayant une résistance aux antibiotiques.**

Souches / ATB	(E_n)		*S. liquefaciens*		*M. morganii*	
	CMI	Interprétation	CMI	Interprétation	CMI	Interprétation
AMP	-	-	-	-	≥32	R
AMC	≥32	R	≥32	R	≥32	R
TIC	≥128	R	≥128	R	≥128	R
PIP	≥128	R	64	I	TRM	-
CF	≥64	R	≥64	R	≥64	R
FOX	≥64	R	32	R	32	R
CTX	≥64	R	≤1	S	16	I
CAZ	≥64	R	8	I	32	R
ERT	-	-	≤0.5	S	≤0.5	S
IMP	≤0.25	R	0.5	S	4	S
AMI	≥64	R	4	S	≤2	S
GEN	≥16	R	2	S	≥16	R
TOB	≥16	R	2	S	4	S
NAL	≥32	R	≥32	R	≥32	R
CIP	≥4	R	≥4	R	≥4	R
OFX	≥8	R	≥8	R	≥8	R
NIT	256	R	32	R	128	R
TMP	≥320	R	≤20	S	≤20	S

❖ **La CMI des *Staphylocoques* ayant une résistance aux antibiotiques.**

Souches ATB	(S_1)		(S_2)	
	CMI	**interprétation**	**CMI**	**interprétation**
Test FOX screen	NEG	-	POS	+
PG	≥0.5	R	≥0.5	R
Oxa	≥4	R	≥4	R
GEN	≤0.5	S	≤0.5	S
K	≤4	S	≤4	S
TOB	≤1	S	≤1	S
OFX	1	S	1	S
R .inductible a CM	NEG	-	NEG	-
EM	≥8	R	≥8	R
Lin	≥16	R	≥16	R
PT	≥8	R	≥8	R
TEC	≥32	R	≥32	R
VA	≥32	R	≥32	R
TET	≤1	S	≥16	R
FOS	≥128	R	≥128	R
NIT	≤16	S	32	S
FD	16	I	≥32	R
RIF	≥4	R	≥4	R
SXT	≤10	S	≤10	S

❖ **La CMI des *K. pneumoniae*ayant une résistance aux antibiotiques.**

Souches	K		K		K.		K.		(K_2)	
ATB	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation
AMP	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R
AM C	<= 2	S	>= 32	R	8	S	8	S	16	I
TIC	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R
PIP	8	S	>= 128	R	>= 128	R	>= 32	I	>= 128	R
CF	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R
FOX	8	S	8	S	<= 4	S	<= 4	S	<= 4	S
CTX	<= 1	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R
CAZ	4	R	>= 64	R	>= 64	R	16	R	>= 64	R
ERT	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S
IMP	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S
AMI	<= 2	S	8	S	<= 2	S	<= 2	S	4	S
GEN	<= 1	S	>= 16	R	>= 16	R	>= 16	R	>= 16	R
TOB	<= 1	S	>= 16	R	<= 1	S	4	S	>= 16	R
NAL	4	S	4	R	16	S	8	R	>= 32	R
CIP	<= 0,25	S	1	S	2	I	1	S	>= 4	R
OFX	<= 0,25	S	1	S	4	I	2	S	>= 8	R
FT	64	I	128	R	64	I	64	I	64	I
TMP	<= 20	S	>= 320	R	>= 320	R	>= 320	R	>= 320	R

Souches	(K_1)		(K_2)		(K_3)		(K_4)		(K_5)	
ATB	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation	CMI	Interpré t-ation
AMP	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R	>= 32	R
AM C	<= 2	S	>= 32	R	8	S	8	S	16	I
TIC	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R	>= 128	R
PIP	8	S	>= 128	R	>= 128	R	>= 32	I	>= 128	R
CF	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R
FOX	8	S	8	S	<= 4	S	<= 4	S	<= 4	S
CTX	<= 1	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R	>= 64	R
CAZ	4	R	>= 64	R	>= 64	R	16	R	>= 64	R
ERT	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S	<= 0,5	S
IMP	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S	<= 0,25	S
AMI	<= 2	S	8	S	<= 2	S	<= 2	S	4	S
GEN	<= 1	S	>= 16	R	>= 16	R	>= 16	R	>= 16	R
TOB	<= 1	S	>= 16	R	<= 1	S	4	S	>= 16	R
NAL	4	S	4	R	16	S	8	R	>= 32	R
CIP	<= 0,25	S	1	S	2	I	1	S	>= 4	R
OFX	<= 0,25	S	1	S	4	I	2	S	>= 8	R
FT	64	I	128	R	64	I	64	I	64	I
TMP	<= 20	S	>= 320	R	>= 320	R	>= 320	R	>= 320	R

Annexe 03 : Matériels et produits utilisés.

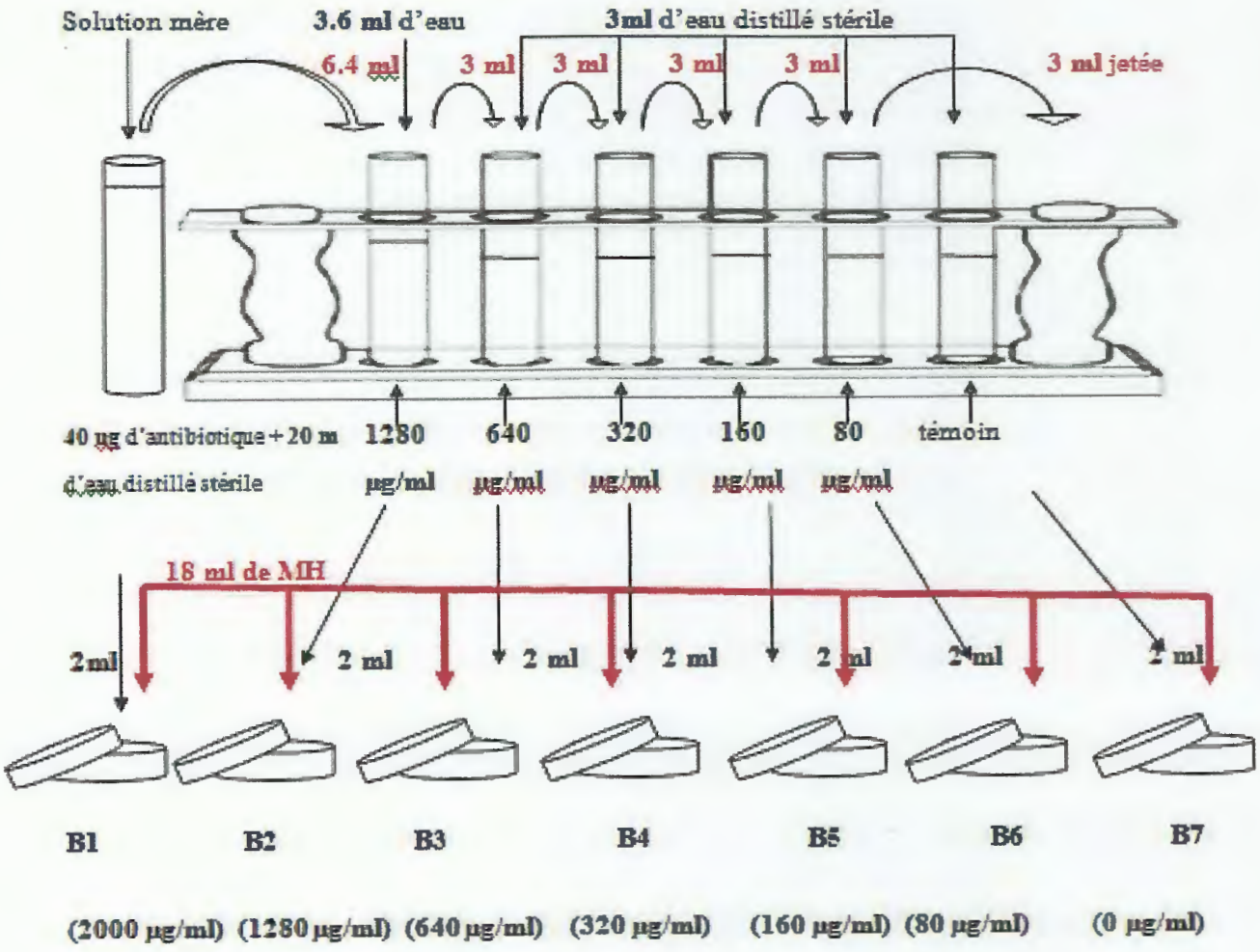
- **Machine VITEK 2®compact (biomérieux).**

- **Densichek Plus (bioMérieux).**

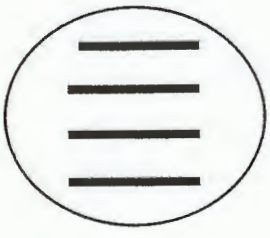
- **Cassettes AST et GN :**

Annexe 04 :

❖ **Le protocole standard de la CMI :**



Chaque boite correspond à une dilution précise, on laisse les boites séché a l'air libre puis on l'ensemencé en stries par les suspensions bactériennes des souches testés.



Souche 1

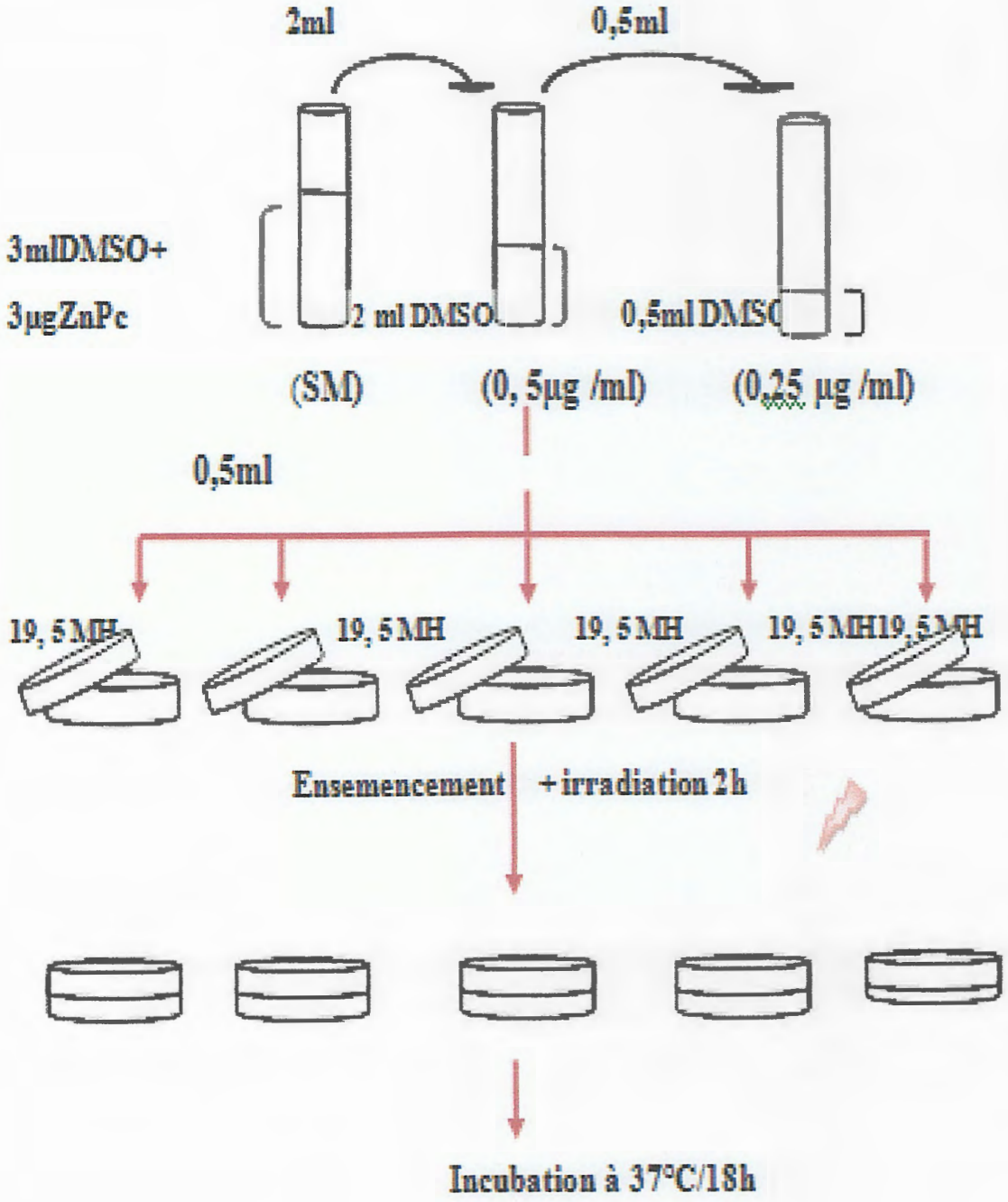
Souche 2

Souche 3

Souche 4

La lecture des résultats se fait le lendemain après incubation à 37°C pendant 24h.

❖ Protocole de la photosensibilisation



Présenté par:	Encadré par:	Membres de jury:
Melle. Meghouache Siham	Dr : Roula. S.	Mme Benhamada Wahiba.
Melle. Guemraoui Amira		Mme Boussouf .

L'effet de phtalocyanine de zinc sur la résistance des bactéries responsable des infections urinaires

Résumé

L'antibiorésistance des bactéries uropathogènes complique la conduite thérapeutique. A ce titre, nous avons entrepris une étude, dont l'objectif était de déterminer l'effet de phtalocyanine de zinc (ZnPc) sur la résistance des bactéries responsables d'infections urinaires (IU).

L'étude bactériologique a permis d'isoler surtout des entérobactéries et en particulier *E.coli* et certaines coques Gram positif. Nos résultats ont montré une diminution nette des valeurs de CMI pour les souches testées après photosensibilisation pour la plupart des souches étudiées, par comparaison à celles obtenues avant photosensibilisation sur les mêmes souches. De ce fait, la photosensibilisation pourrait présenter de grandes perspectives comme méthode antibactérienne à large spectre.

Mots clé: Bactérie, infection urinaire, résistance, phtalocyanine de zinc, photosensibilisation.

Abstract:

The antibiotic resistance of uropathogenic bacteria complicates the therapeutic management (conduct). From this title, a study was done with the objective of determining the effect of zinc phtalocyanine (ZnPc) on the resistance of bacteria responsible for urinary tract infection.

The bacteriological study made it possible to isolate mainly enterobacteria in particular *E. coli* and somes cocci Gram positive. Our results showed a marked decrease in MIC values for the strains tested after photosensitization for most strains studied, compared to those obtained before photosensitization on the same strains

As a result, photosensitization may have great potential as a broad spectrum antibacterial method.

Key words: Bacteria, urinary tract infection, resistance, zinc phtalocyanine (ZnPc), photodynamic therapy

ملخص:

إن مقاومة المضادات الحيوية لدى البكتيريا المسؤولة عن التهاب المسالك البولية أدى إلى مشكلة صعوبة العلاج.

في هدا السياق قمنا بإجراء دراسة بهدف معرفة تأثير فثالوسيانين الزنك phtalocyanine de zinc على مقاومة البكتيريا المسؤولة عن إلتهاب المسالك البولية.

الدراسة البكتيرولوجية سمحت بعزل entérobactérie, خاصة اشيريشيا كولي *E.*coli وبعض البكتيريا مكورات سالبة الغرام.

من خلال نتائجنا لاحظنا تناقص في التركيز المثبط الأدنى لدى أغلبية الميكروبات المعزولة بعد ما عرضناها إلى التحسيس الضوئي في وجود phtalocyanine de zinc و استخلصنا أنه يمكننا إعتماد التحسيس الضوئي كوسيلة مضادة للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا, التهاب المسالك البولية , مقاومة, التحسيس الضوئي, phtalocyanine de zinc.