



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

Université Abbes Laghrou- Khenchela

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



Mémoire MASTER ACADEMIQUE

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

La Résistance des bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques macrolides et bêta-lactamines

Présenté par :

- OUNISSI Chaïma
- HOUHA Hadil
- GHAOUI Lamia

Devant le jury :

Président : Dr. MELLAL Hanene	MCB	Université de Khenchela
Encadrant : Dr. TAKOUECHET Radhwane	MCB	Université de Khenchela
Examineur : Dr. BADIS Zakaria	MAA	Université de Khenchela

Années Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Avant tout, louange au Dieu le plus puissant pour ce qu'il nous a donné, comme

Santé, volonté et surtout patience pour pouvoir achever ce modeste travail.

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promoteur

Ms TAKOUCHEZ Radhwane

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour ses précieux conseils, son encouragement et son soutien constant tout au long du processus

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury, qui nous font l'honneur d'examiner notre travail :

Président : Dr MELLAL Hanene

Examineur : Dr BADIS Zakaria

Nous avons effectué un stage au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) à Constantine afin d'acquérir une expérience professionnelle dans notre domaine. À cet égard, nous exprimons nos sincères remerciements au Professeur ABED EL HAK DJEMEL pour tous ses efforts.

Enfin, nous remercions toute personne qui a contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Je rends grâce à DIEU de m'avoir donné le courage et la volonté
ainsi que la conscience
pour venir à terme de mes études.*

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, ma mère et mon père,

*Pour votre patience infinie, votre dévouement sans limite, Pour les
innombrables sacrifices que vous avez consentis, Pour la confiance
que vous avez toujours placée en moi, Pour l'amour inconditionnel
que vous m'avez donné, Pour les moments où vous avez été mes
épaules sur lesquels j'ai pu pleurer, Pour les encouragements qui
m'ont poussé à poursuivre mes rêves*

*Vous avez été mes piliers, mes guides, mes héros, À travers les hauts
et les bas Pour les moments où vous avez été mes épaules sur lesquels
j'ai pu pleurer, Pour les encouragements qui m'ont poussé à
poursuivre mes rêves*

*A mes frères « Atef » et « Zaki » que je vous souhaite beaucoup de
bonheur et de réussite*

À ma grande sœur chérie, « fifi »

*Cette dédicace est spécialement pour toi, ma sœur la plus honnête et
la plus proche de mon cœur. Depuis notre enfance, tu as toujours été
là pour moi, me guidant avec tes conseils sages et ta sincérité
inébranlable.*

Tu es ma confidente la plus fidèle, celle à qui je peux tout raconter sans crainte de jugement. Ta franchise est une qualité précieuse qui m'a toujours permis de grandir et de m'épanouir.

Dans les moments de joie et de tristesse, tu es toujours là, prête à m'écouter et à me soutenir. Ta présence dans ma vie est un cadeau inestimable, et je suis reconnaissante de t'avoir comme grande sœur

À mes adorables sœurs, « Somia, jolie, kouki »

Cette dédicace est remplie d'amour et d'affection pour chacune d'entre vous. Vous êtes mes rayons

Je vous souhaite une vie pleins d'amour et de réussite et de santé

Merci pour leurs encouragements

A toute Ma famille paternelle et maternelle

A mes neveux « Raïd, Sofia, Yahya, Haythem, Mouadh, Anis, Yasmine, Yazen, Mouatez, Lina, Larine » je vous aime mes anges

A ma copine « AROUI Louisa » bon courage ma belle

A tous les enseignants de la promotion Biochimie Appliquée

Merci pour tes efforts je te souhaite une vie heureuse

Chaïma...

Dédicace

Tout d'abord, A dieu au Tout-Puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage nécessaires pour accomplir ce précieux travail.

À mon très cher père,

Qui a toujours été une source d'inspiration et de soutien inébranlable, je te dédie ce travail avec gratitude et admiration.

À la personne la plus chère à mon cœur, ma mère,

Qui m'a accompagnée avec vaillance à chaque étape de ma vie, les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi. Je te dois ma Réussite, mon éducation et ma fierté.

Que Dieu vous accorde une bonne santé et une longue vie.

À mes sœurs Amel, Amina et Khawla, je vous remercie pour votre soutien permanent et votre soutien moral. Votre présence a été un réconfort constant dans Ma vie.

À mon cher frère unique, Ilyes, Tes encouragements et ton soutien ont été précieux pour moi.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide de près Ou de loin dans la réalisation de ce travail. Votre contribution a été inestimable et je suis reconnaissante de votre soutien.

Que ces dédicaces témoignent de ma gratitude envers chacun d'entre vous.

Hadil....

Dédicace

Je remercie Allah, le tout puissant, le miséricordieux, de m'avoir guidé et éclairé pour parvenir à ce stade et devenir ce que je suis aujourd'hui

A mon père, « L'épaulé solide, l'œil attentif, compréhensif, la personne la plus digne de mon estime et de mon respect » Pour avoir fait de moi ce que je suis, sans ton soutien à tous niveaux, je n'y serais jamais arrivée.

A ma mère, « La plus belle des créatures que dieu créa sur terre... la source de tendresse, de patience et de générosité... » Avec courage et dignité tu as subi les souffrances du monde, espérant édifier un avenir meilleur à tes enfants, ton courage et ton dévouement resteront gravés en moi. Que dieu te garde longtemps auprès de nous.

A mes frères (AMMAR ET ANOUAR)

Et ma Belle-sœur (LINA),

Pour vous dire que mon souhait ardent est la compréhension, l'entente, la solidarité et enfin une famille unie

*A mes amis d'ici et d'ailleurs, Pour ces années pleines d'amitié, pour
Votre compagne tout au long de mon chemin*

Lamia....

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de la résistance aux antibiotiques de souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*). Cette étude qui a eu lieu au laboratoire de recherche de l'université Abbes Laghrou de Khenchela dans le cadre d'obtenir un diplôme de Master en biochimie appliquée. La présente étude nous a permis d'étudier la capacité des souches bactérienne (*Staphylococcus aureus* à Gram positif et *Pseudomonas aeruginosa* à Gram négatif) à résister à certains antibiotiques avec un total de 4 antibiotiques de deux types différents (beta lactamine et macrolide). Les résultats obtenus ont montré que *S. aureus* présente une grande sensibilité à l'oxacilline et à la spiramycine, alors qu'elle a montré une résistance à l'aztreonam et à l'amoxicilline, indiquant que ces médicaments ne sont pas efficaces pour traiter les infections causées par cette souche de bactérie. En ce qui concerne *P. aeruginosa*, les résultats ont révélé une résistance à tous les antibiotiques testés, y compris les bêta-lactamines (oxacilline, aztreonam, amoxicilline) et macrolide (spiramycine). Cette résistance généralisée souligne la difficulté de traiter les infections causées par *P. aeruginosa*, car les antibiotiques couramment utilisés ne sont pas efficaces. D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, *P. aeruginosa* est une souche multirésistante aux quatre antibiotiques utilisés contrairement à la souche bactérienne *S. aureus* qui est moins résistants aux antibiotiques étudiés. Le suivi de la résistance des bactéries aux antibiotiques est très important pour prévenir la dissémination des souches résistantes en milieu hospitalier.

Mots clés : Antibiotiques, La résistance bactérienne, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Antibiogramme, beta lactamine, macrolide

Abstract:

Our work focuses on the study of antibiotic resistance of bacterial strains (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*). This study took place at the research laboratory of the ABBES Laghrour University of Khenchela as part of obtaining a master's degree in applied Biochemistry. This study allowed us to study the ability of bacterial strains (Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Pseudomonas aeruginosa*) to resist certain antibiotics with a total of 4 antibiotics of two different types (betalactam and macrolide). The results obtained showed that *S. aureus* has a high sensitivity to oxacillin and spiramycin, while it showed resistance to aztreonam and amoxicillin, indicating that these drugs are not effective in treating the infections caused by this strain of bacteria. For *P. aeruginosa*, results revealed resistance to all antibiotics tested, including beta-lactams (oxacillin, aztreonam, amoxicillin) and macrolide (spiramycin). This widespread resistance highlights the difficulty of treating infections caused by *P. aeruginosa*, as commonly used antibiotics are not effective. According to the results of the evaluation of antibiotic resistance obtained, *P. aeruginosa* is a multi-resistant strain to the four antibiotics used, unlike the bacterial strain *S. aureus* which is less resistant to the antibiotics studied. Monitoring the resistance of bacteria to antibiotics is very important to prevent the spread of resistant strains in hospitals.

Keywords: Antibiotics, Bacterial resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Antibiogram, beta lactamine, macrolide

ملخص

يركز عملنا على دراسة مقاومة السلالات البكتيرية (*Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*) للمضادات الحيوية. أجريت هذه الدراسة في مختبر الأبحاث التابع لجامعة عباس لغرور ولاية خنشلة. للحصول على شهادة الماستر في الكيمياء الحيوية التطبيقية. سمحت لنا هذه الدراسة بدراسة قدرة السلالات البكتيرية (*Staphylococcus aureus*) إيجابية الجرام و *Pseudomonas aeruginosa* (سالبة الجرام) على مقاومة بعض المضادات الحيوية بإجمالي 4 مضادات حيوية من نوعين مختلفين (Macrolide و Betalactam). وأظهرت النتائج المتحصل عليها أن بكتيريا *S. aureus* لديها حساسية عالية للأوكساسيلين والسيبراميسين ، بينما أظهرت مقاومة للأزثرونام والأموكسيسيلين ، مما يشير إلى أن هذه الأدوية يمكن ان تكون غير فعالة في علاج الالتهابات التي تسببها هذه السلالة من البكتيريا. بالنسبة إلى *P. aeruginosa* أظهرت النتائج أن هذه السلالة مقاومة لجميع المضادات الحيوية المختبرة بما في ذلك بيتا لاكتام (أوكساسيلين ، أزثرونام ، أموكسيسيلين) وماكرولايد (سبيراميسين). تسلط هذه المقاومة الواسعة الانتشار الضوء على صعوبة علاج العدوى التي تسببها *P. aeruginosa* ، حيث أن المضادات الحيوية شائعة الاستخدام غير فعالة. وفقاً لنتائج تقييم مقاومة المضادات الحيوية التي تم الحصول عليها فإن *P. aeruginosa* هي سلالة متعددة المقاومة للمضادات الحيوية الأربعة المستخدمة، على عكس السلالة البكتيرية *S. aureus* الأقل مقاومة للمضادات الحيوية التي تمت دراستها. تعتبر مراقبة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية أمراً مهماً للغاية لمنع انتشار السلالات المقاومة في المستشفيات.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية، المقاومة البكتيرية، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*. المضادات الحيوية، بيتا لاكتامين، ماكرولايدو

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I: Les bactéries

1. Généralités 6

***Pseudomonas aeruginosa*..... 6**

1.1. Historique..... 6

1.2. Habitat..... 6

1.3. Classification..... 7

1.4. Caractère phénotypique 8

1.4.1. Caractère morphologique..... 8

1.4.2. Caractère biochimique..... 8

1.4.3. Caractères culturels..... 9

1.4.4. Production des pigments..... 9

1.4.5. Caractères antigéniques..... 10

1.4.6. Caractères génotypiques..... 10

2. *Staphylococcus Aureus* 11

2.1. Historique..... 11

2.2. Habitat..... 12

2.3. Classification..... 12

2.4. Caractères phénotypiques 12

2.4.1. Caractères morphologiques..... 12

2.4.2. Caractères biochimiques..... 13

2.4.3. Caractères culturels..... 13

2.4.4.	Caractères antigéniques.....	14
2.4.5.	Caractères génotypiques.....	15

Chapitre II: Les antibiotiques

1.	Les antibiotiques.....	17
1.1.	Généralités	17
1.1.1.	Historique.....	17
1.2.	Types des antibiotiques.....	18
1.2.1.	L'antibiotique origine naturelle.....	18
1.2.2.	L'antibiotique Origine synthétique	18
1.3.	Classification des antibiotiques	19
1.4.	Mode d'action des antibiotiques	20
1.4.1.	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire.	20
1.4.2.	Inhibition de la synthèse des protéines.....	20
1.4.3.	Perturbation de la membrane cellulaire.....	20
1.4.4.	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques.	20
1.5.	Paramètres d'activité d'un antibiotique.....	21
1.5.1.	Concentration minimale inhibitrice.....	21
1.5.2.	Concentration minimale bactéricide.....	21
1.6.	Les macrolides	22
1.6.1.	Définition.....	22
1.6.2.	Classification.....	22
1.6.3.	Structure chimique générale des macrolides commercialisés	23
1.6.4.	Erythromycine et spiramycine.....	24
1.6.5.	Les espèces sensibles.....	24
1.6.6.	Mécanisme d'action des macrolides	26
1.7.	β -lactamines.....	27
1.7.1.	Mode d'action des β -lactamines.....	29
2.	La résistance des antibiotiques.....	29
2.1.	Généralités	30
2.2.	Les types de résistance des antibiotiques.	30
2.2.1.	Résistance naturelle.....	30
2.2.2.	Résistance acquise.	30
2.2.3.	Résistance croisée.	31
2.2.4.	Efflux.	31
2.2.5.	Résistance par voie enzymatique.	32
2.2.6.	Mécanismes non-enzymatiques.....	32

2.3. La résistance aux antibiotiques chez <i>P. aeruginosa</i>	32
2.4. La résistance aux antibiotiques chez <i>staphylococcus aureus</i>	34

Chapitre III: L'antibiogramme

Introduction	37
1. Généralité.....	37
1.1 Définition.....	37
1.2 Le but.....	38
2. Les types de l'antibiogramme.....	38
2.1. Antibiogramme standard	38
2.2. Antibiogramme automatisé	38
2.3. Antibiogramme séquentiel.....	39
2.4. Antibiogramme en micro-dilution	39
2.5. Antibiogramme de gradient	39
3. Technique de l'antibiogramme	39
3.1. Prélèvement de l'échantillon clinique.....	39
3.2. Culture bactérienne Culture bactérienne	39
3.3. Identification de la souche bactérienne	39
3.4. Préparation des disques d'antibiotiques.....	40
3.5. Incubation	40
3.6. Mesurée les zones d'inhibition	40
3.7. Interprétation des résultats	40
4.Limites et précautions de l'antibiogramme.....	40
4.1. Limites de l'antibiogramme.....	40
5.l'interpretation de l'antibiogramme	41

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1. Matériels.....	45
1.1 Matériels Biologique	45
1.2 Matériels de laboratoire.....	45
2. Méthode.....	47
2.1 Principales caractéristiques des souches testées.....	47
2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	47
2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
2.2 Evaluation de l'antibiogramme des différents antibiotiques.....	48
2.2.1 Préparation de préculture (réactivation des souches).....	48

2.2.2 Préparation de la suspension bactérienne et standardisation	49
2.3 Evaluation de l'antibiogramme par la méthode de diffusion par disque.....	50
2.3.1 Principe	50
2.3.2 Protocole expérimental	51
2.3.3 Dépôt des disques	52

Résultas et disscusions

3. Lecture des résultats	55
3.1. Résultats	56
3.1.1 Pour la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	56
3.1.2 Pour la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59

Conclusion générale

Conclusion générale	64
---------------------------	----

Références bibliographiques

Sitographie

Listes des figures

Figure 1: Gamme fonctionnelle et environnementale des espèces de <i>Pseudomonas</i>	7
Figure 2: Aspect microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
Figure 3: Tailles des génomes des principales espèces bactériennes pathogènes déposés sur le NCBI.....	11
Figure 4: Aspect de <i>S. aureus</i> après une coloration de gram.....	13
Figure 5: Cibles des principaux antibiotiques.	21
Figure 6: Classification des macrolides.....	22
Figure 7: Structure chimique générale des macrolides commercialisées	23
Figure 8: Structure des différentes classes d'antibiotiques β -lactamines	27
Figure 9: La révolution β -lactamines.	28
Figure 10: Système d'efflux actif.....	31
Figure 11: Principaux moyens de résistance aux antibiotiques.....	32
Figure 12: Mécanismes de la résistance aux antibiotiques médiée par le biofilm.	33
Figure 13: Une représentation schématique des mécanismes de résistance antibiotique intrinsèque chez <i>P. aeruginosa</i>	34
Figure 14: Mécanisme de multi résistance aux médicaments	35
Figure 15: Exemple d'antibiogramme.....	37
Figure 16. Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i>	47
Figure 17: Aspect de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figure 18: Principe de l'antibiogramme	50
Figure 19: Lecture des résultats d'antibiogramme	55
Figure 20: Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure 21: Pourcentage de résistance enregistré avec les bêta-lactamines au CMSC de 1996 à 2006. Am : ampicilline, Amc : amoxicilline, Amx : amoxicilline /acide clavulanique, Cf : céfazoline.	58
Figure 22 : La résistance et la sensibilité des souches <i>S. aureus</i> aux macrolides.....	58
Figure23 : Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59

Liste des photos

Photos A : Matériels de laboratoire (photos originales)	46
Photos B : Prélèvement d'une colonie bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> par une pipette pasteur stérilisée à l'aide d'une flamme provenant du bec bunsen avant et après chaque utilisation.....	48
Photos C : Inoculation de la colonie dans 5 mL de bouillon nutritif stérile et homogénéisation, incubation de la suspension bactérienne à 37°C pendant 24 heures.....	49
Photo D : Prélèvement d'une petite quantité de la suspension bactérienne.....	49
Photo E : Transfert de chaque suspension bactérienne dans un tube contenant 5 mL d'eau physiologique.....	49
Photo F : Versée de chaque suspension bactérienne dans une cuvette de spectrophotomètre.....	49
Photos G : Mesure de la densité optique de la suspension bactérienne à l'aide du spectrophotomètre.....	50
Photos H : Ensemencement à l'aide d'un écouvillon.....	51
Photo I : Boîte pétri contenant une souche de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Photo J : Boîte pétri contenant une souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Photos K : Mise en place des disques d'antibiotiques dans les boîtes pétries.....	52
Photos L : Boîtes de pétries laissées sur paillasse pendant 30 mn.....	52
Photo M : Boîtes pétries placées dans une étuve à 37°C pendant 24 h.....	53
Photo N : Lecture des ATBG en utilisant quatre disques d'antibiotiques différents (Disque Aztreonam, Disque Amoxicilline, Disque Oxacilline, Disque Spiramycine) sur <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Photos O : Lecture des ATBG en utilisant quatre disques d'antibiotiques différents (Disque Aztreonam, Disque Amoxicilline, Disque Oxacilline, Disque Spiramycine) sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
Tableau 02 : La classification de <i>S.aureus</i>	12
Tableau 03 : Classification des antibiotiques	19
Tableau 04 : CMI des macrolides vis-à-vis de bactéries d'intérêt clinique.....	25
Tableau 05 : Pharmacocinétique des macrolide	26
Tableau 06 : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques	42
Tableau 07 : Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Tableau 08 : Résultat de l'antibiogramme pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
Tableau 09 : Concentrations critiques et diamètres critiques pour les <i>Pseudomonas</i> d'après le CASFM 2019.....	61
Tableau 10 : Principaux mécanismes de résistance.....	62

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATP : Acide adénosine triphosphorique

AMX : Amoxicilline

AZT: Azetronam

BHI: Brain Heart infusion

CBA : Columbia Blood Agar

CMB : La concentration minimale bactéricide

CMI : La concentration minimale inhibitrice

CF : Céfazoline

IRI : Infection respiratoire aigue

LPS : Lipopolysaccharide

MDR : Multixdrug resistance

MEVAG : Milieu pour l'étude de la d'attaque des glucides

MRP : Protéine multiresistance

MSA : Mannitol Salt Agar

NCBI : National center for biotechnology information

OSA : Antigène spécifique O

Ox : Oxacilie

P.aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa

S.aureus : Staphylococcus aureus

SP : Spiramycine

Introduction Générale

Introduction Générale

La résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique de plus en plus préoccupant ces dernières années. (**World Health Organization 2019**).

Les bactéries peuvent développer une résistance aux antibiotiques en raison de l'utilisation fréquente et inappropriée d'antibiotiques, ce qui rend les infections plus difficiles à traiter. (**Centers for Disease Control and Prevention 2013**).

Elle peut entraîner des coûts financiers importants pour les systèmes de santé, ainsi qu'une augmentation de la morbidité et de la mortalité associées aux infections bactériennes. (**Spellberg, B., & Lipsitch, M.2017**).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est inquiétante quand elle est acquise : le traitement d'une infection, due à une bactérie jusque-là sensible, n'est plus actif.

La résistance se définit alors par l'inefficacité de la dose d'antibiotique au niveau du site infectieux : la concentration d'antibiotique est très inférieure à la concentration minimale inhibitrice d'antibiotique permettant d'arrêter la croissance de la bactérie. (**Yvon M. 2012**).

Mais le monde bactérien s'est adapté aux antibiotiques et cela s'est traduit par l'émergence de souches résistantes chez l'homme, chez les animaux et dans l'environnement. L'existence de ces bactéries résistantes a des conséquences sur la thérapeutique, la santé publique et l'hygiène de l'environnement. (**J.F. Guillot. 1989**)

Pseudomonas aeruginosa est connu pour sa capacité à devenir résistant à plusieurs classes d'antibiotiques, y compris les Amin glycosides, les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération. (**World Health Organization.2021**). Cette résistance peut rendre le traitement des infections causées par cette bactérie difficile et nécessiter l'utilisation de plusieurs classes d'antibiotiques combinées. (**European Centre for Disease Prevention and Control.2020**).

Les infections causées par *Pseudomonas aeruginosa* peuvent inclure la pneumonie, les infections urinaires, les infections de la peau et des tissus mous, et les infections de l'oreille, entre autres. (**MedlinePlus.2021**).

Le diagnostic précis et la surveillance attentive sont importants pour éviter la progression de l'infection et pour élaborer un plan de traitement efficace. (**American Lung Association.2021**).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Staphylococcus aureus est une bactérie peut causer une variété de maladies, notamment des infections de la peau comme les furoncles et les abcès, ainsi que des infections plus graves telles que les pneumonies, les infections ostéo-articulaires et les endocardites. (**World Health Organization. 2021**)

Staphylococcus aureus a un fort pouvoir adaptatif et a développé différents mécanismes de résistance aux anti staphylococciques. Plus de 90 % des souches produisent une pénicillinase.

L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers, et plus récemment communautaires (présents hors de l'hôpital), ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres β -lactamines. (**Oana Dumitrescu Et al. 2010**)

Notre étude, qui rentre dans ce cadre, a pour objectif d'identifier les antibiotiques les plus efficaces pour traiter une infection bactérienne spécifique en testant la sensibilité des bactéries *S. aureus* et *P. aeruginosa* à différents antibiotiques.

Cela aide à guider les médecins dans le choix d'un traitement antibiotique approprié pour une infection donnée, en évitant l'utilisation inutile d'antibiotiques ou la prescription d'un antibiotique inapproprié qui pourrait conduire à la résistance aux antibiotiques.

Lors de l'étude de ce sujet, notre mémoire est divisé en deux parties. La première partie consiste en une synthèse bibliographique qui inclut des généralités sur les bactéries *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Nous abordons leur classification, leur morphologie, leur habitat naturel et leur structure. De plus, nous discutons en détail de la résistance aux antibiotiques, en explorant les différents types de résistance et leurs mécanismes principaux. Cette partie permet de mieux comprendre ces bactéries spécifiques et les défis liés à leur traitement.

Nous ferons ensuite un focus sur les antibiotiques, en replaçant le contexte de leur découverte, les familles d'antibiotiques dans leur globalité, mais aussi en définissant ce qu'est un antibiotique, leurs caractéristiques et leurs modes d'action. Il est important de bien connaître toutes ces molécules afin de les utiliser de manière plus rationnelle.

De plus, nous discutons en détail de la résistance aux antibiotiques, en explorant les différents types de résistance et leurs mécanismes principaux. Cette partie permet de mieux comprendre ces bactéries spécifiques et les défis liés à leur traitement.

Ensuite, nous abordons la technique de l'antibiogramme, qui revêt une importance centrale dans notre étude expérimentale. Nous détaillons leur principe, objectif, les types et les méthodes utilisés pour identifier microbiologiquement les souches bactériennes en relation avec les antibiotiques testés.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La deuxième partie est une étude expérimentale qui représente les objectifs de notre travail. Elle étudie les infections causées par *S. aureus* et *P. aeruginosa* en isolant et en identifiant microbiologiquement les souches bactériennes par rapport aux antibiotiques testés. Le but est d'étudier leur résistance aux antibiotiques par la technique d'antibiogramme.

Partie
bibliographique

Chapitre I :

Les Bactéries

1. Généralités

Les bactéries sont de petits organismes unicellulaires. Se trouvent presque partout sur Terre et sont vitales pour les écosystèmes de la planète. Certaines espèces peuvent vivre dans des conditions extrêmes de température et de pression. Le corps humain est plein de bactéries, et en fait on estime qu'il contient plus de cellules bactériennes que de cellules humaines. La plupart des bactéries présentes dans le corps sont inoffensives et certaines sont même utiles. Un nombre relativement restreint d'espèces provoquent des maladies. **(NIH, 2023)**

Les bactéries sont des micro-organismes qui se présentent sous diverses formes. Ils peuvent être des sphères, des tiges ou des spirales. Il y a des bactéries qui sont mauvaises, que nous appelons pathogènes, et elles causeront des maladies, mais il y a aussi de bonnes bactéries. Par exemple, dans notre système digestif, dans l'intestin, nous avons des bactéries qui sont très nécessaires pour aider notre corps à fonctionner normalement. Ce qui est intéressant à propos des bactéries, c'est que dans notre corps, nous avons 10 fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines. Les bactéries sont également importantes en biotechnologie. Ils sont également importants en ce qu'ils, encore une fois, aideront le corps à se maintenir en bonne santé. **(NIH, 2023)**

Pseudomonas aeruginosa

1.1.Historique

En 1882, Carle Gessard (1850-1925) d'abord isolé *Pseudomonas aeruginosa* des infections des plaies soldats dont les bandages avaient une couleur bleue et verte. **(Nicholas m & maribeth f. 2011).**

Walter Migula (1863-1938) a d'abord proposé le genre *Pseudomonas* en 1894 pour englober tous les gram-négatifs, bacilles aérobies en forme de tige qui avaient des flagelles polaires. Parce que cette définition était si large, sans rapport organismes ont été ajoutés au genre au point que dans 1984, plus de 100 espèces de *Pseudomonas* ont été inscrites dans le Manuel de bactériologie systématique de Bergey. **(Chaker H. 2012)**

1.2.Habitat

Pseudomonas est un type de bactérie (germe) que l'on trouve couramment dans l'environnement, comme dans le sol et dans l'eau **(CDC. 2019).**

Généralement les *Pseudomonas* sont très ubiquistes **(Sefraoui, 2015)**. Les souches ubiquistes ont généralement une très large versatilité nutritionnelle et elles peuvent vivre dans

des niches écologiques très diverses (Emmanuelle & El Amari, 2004 ; Botelho & Leda, 2006 ; Sefraoui, 2015).

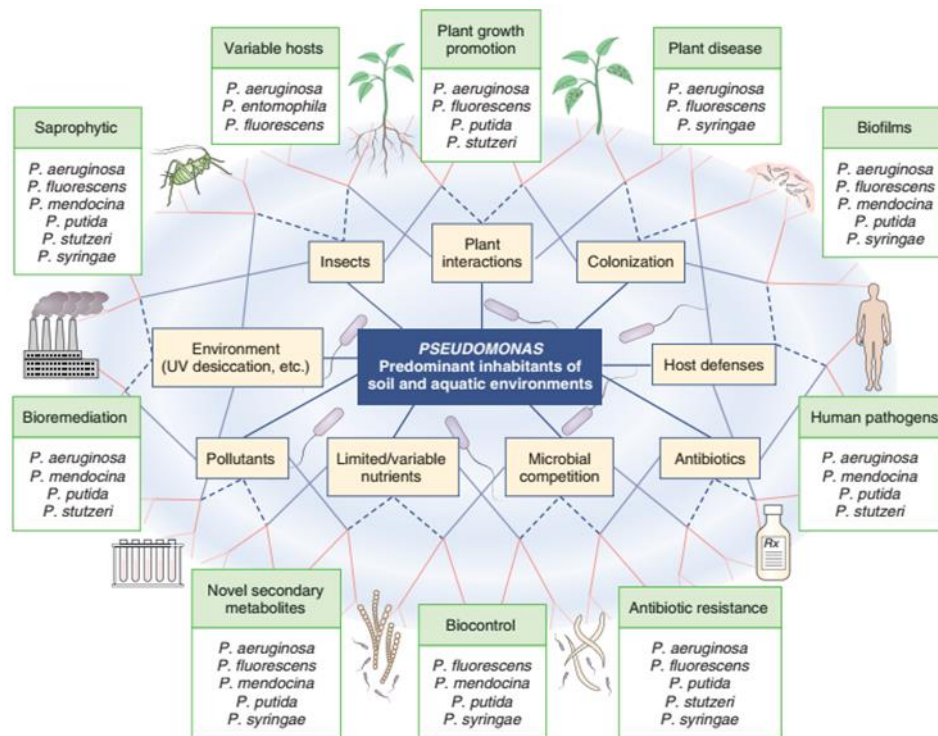


Figure 1: Gamme fonctionnelle et environnementale des espèces de *Pseudomonas*. (Araos, R., & D'Agata, E. 2019).

1.3. Classification

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* appartient à la famille de *pseudomonaceae* qui sont des bactéries Gram négatif, à ciliature polaire (rarement immobiles), aérobies strictes, ayant un métabolisme exclusivement respiratoire et ne fermentent jamais le glucose (Micek, S 2015) Benabid R, 2009)

Tableau 01 : Classification de *Pseudomonas aeruginosa* (Mderreg, 2015)

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudoonas Aeruginosa</i>

1.4. Caractère phénotypique**1.4.1. Caractère morphologique**

P. aeruginosa est une bactérie opportuniste, Gram négatif mobile grâce à un flagelle polaire, et se développant généralement dans des conditions d'aérobie stricte.

Ce bâtonnet mesure 0,5 à 1 µm par 1,5 à 4 µm de long et ne forme pas de spores. C'est une bactérie présentant une réaction positive au test de cytochrome-oxydase ainsi qu'à la catalase (Chaker H. 2012).

Sur un milieu minimal, les colonies de *P. aeruginosa* sont opaques, planes, légèrement crémeuses et possèdent un aspect nacré à reflet métallique.

La pigmentation ainsi que l'odeur caractéristique du raisin oignant de la production d'aminocétophénone demeurent des caractéristiques intéressantes pour le diagnostic. Grâce à sa capacité d'adaptation à différentes conditions physiques et à ses exigences nutritionnelles minimales, *P. aeruginosa* peut croître dans plusieurs environnements. Il s'agit de la bactérie qui sécrète le plus grand nombre de pigments et d'exoproduits dans le milieu où elle se développe. (Solbi S. 2013)



Figure 2: Aspect microscopique de *Pseudomonas aeruginosa*. (Khalilzadeh P. 2009)

1.4.2. Caractère biochimique**1.4.2.1. Métabolisme**

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* possède :

- Une oxydase.
- Une nitrate-réductase (réduction des nitrates pouvant aller jusqu'au stade de N gazeux).

- Un métabolisme oxydatif des sucres appréciable sur milieu MEVAG (milieu pour l'étude de la voie d'attaque des glucides).

- Une arginine-dihydrolase.

Pseudomonas aeruginosa dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigments, il hydrolyse aussi la gélatine et la lécithine (Avril J M., et al. 2006)

1.4.3. Caractères culturels

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur des milieux synthétiques simple. (Ariane B. 2017)

Elle pousse facilement en 2 heures à une température de 37° C et peut se développer à des températures variables (5 – 42 °C, l'optimum étant 30 °C) (Sardi F. 2021) mais supporte de moindres variations de pH (6.5 - 7.5, l'optimum étant 7.2). (Palleroni N. 1984).

Aérobies strictes, les bactéries de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* pouvant utiliser pour respiration les nitrates comme accepteurs d'hydrogène, en conséquence dans les milieux anaérobies contenant des nitrates, elle cultive dans toute la hauteur de tube.

Le bouillon est troublé avec développement d'un voile en surface, parfois limité à un simple anneau adhérent aux parois du tube. (Souley L., Moustafa F.S. 2002)

La culture, très alcaline, répand une odeur aromatique. (Eyquem A., et al. 2005) Après quelques jours, un sédiment visqueux s'accumule en profondeurs. Sur gélose apparaissent des colonies de quelques millimètres de diamètre, plates ou surélevées, opaques, à surface assez dépolie, limite par un bord régulier ou finement dentilé, prenant en vieillissant des reflets métalliques. On peut aussi observer des formes rugueuses ou des formes muqueuses. Les dissociations sont fréquentes. (Léon L M; Michel V. 1990)

1.4.4. Production des pigments

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes produisant des pigments spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture (Delarras 2007).

Les espèces pigmentées sont par exemple : *P. aeruginosa* (*P.a*) produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P.putida*, *P.syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine et *P. aureofaciens* : produit un pigment jaune orange ou pourpre. Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes*, *P. stutzeri*. (Martin, 2007).

1.4.5. Caractères antigéniques

Le lipopolysaccharide (LPS) fait partie intégrante de l'enveloppe cellulaire de *Pseudomonas aeruginosa*, occupant le feuillet externe de la membrane externe chez ce pathogène opportuniste à Gram négatif. Il est important pour les interactions bactérie-hôte et s'est avéré être un facteur de virulence majeur pour cet organisme. (Lam, J., et al., 2011) Structurellement, le LPS de *P. aeruginosa* est composé de trois domaines, à savoir le lipide A, l'oligosaccharide central et l'antigène O distal (O-Ag). (Cady A. 2006)

La plupart des souches de *P. aeruginosa* produisent deux formes distinctes d'O-Ag, l'une un homopolymère de D-rhamnose qui est un antigène polysaccharidique commun (CPA, anciennement appelé bande A), et l'autre un hétéropolymère de trois à cinq formes distinctes (et souvent uniques didésoxy) sucres dans ses unités de répétition, connus sous le nom d'antigène spécifique O (OSA, anciennement appelé bande B). (Duchesne R. 2017) Les différences de composition dans les unités O parmi les OSA de différentes souches constituent la base du schéma international de typage antigénique pour la classification via le sérotypage de différentes souches de *P. aeruginosa*. Cady (A. 2006. Lam, J., et al 2011. Duchesne R. 2017).

1.4.6. Caractères génotypiques

Le génome de la souche PA01 de *Pseudomonas aeruginosa* a été complètement séquencé en 2000. Il est le plus grand génome bactérien qui comprend 6,3 millions de paires de bases. Ce génome contenant 5570 gènes, la plupart sont riches en guanine et cytosine (G+C) (66,6). Seuls 6,7 % de ces gènes ont une fonction bien connue. Le pourcentage de séquences régulatrices est plus important dans le génome entier de *Pseudomonas aeruginosa* (8,4%) (STOVER et al., 2000). Depuis de nombreux génomes ont été séquencés, 2427 sont disponibles sur le site du (NCBI juillet 2017) parmi lesquels 94 sont des génomes complets (chromosome circulaire, avec le ou les plasmides éventuels, qui contient la séquence complète au nucléotide près) dont seulement 5 d'entre eux possèdent au moins un plasmide. Le chromosome de cette bactérie code notamment pour la plupart des facteurs de pathogénicité : environ 200 à 300 gènes ce qui représente 5% du génome (KOHLENER et DELDEN, 2009).

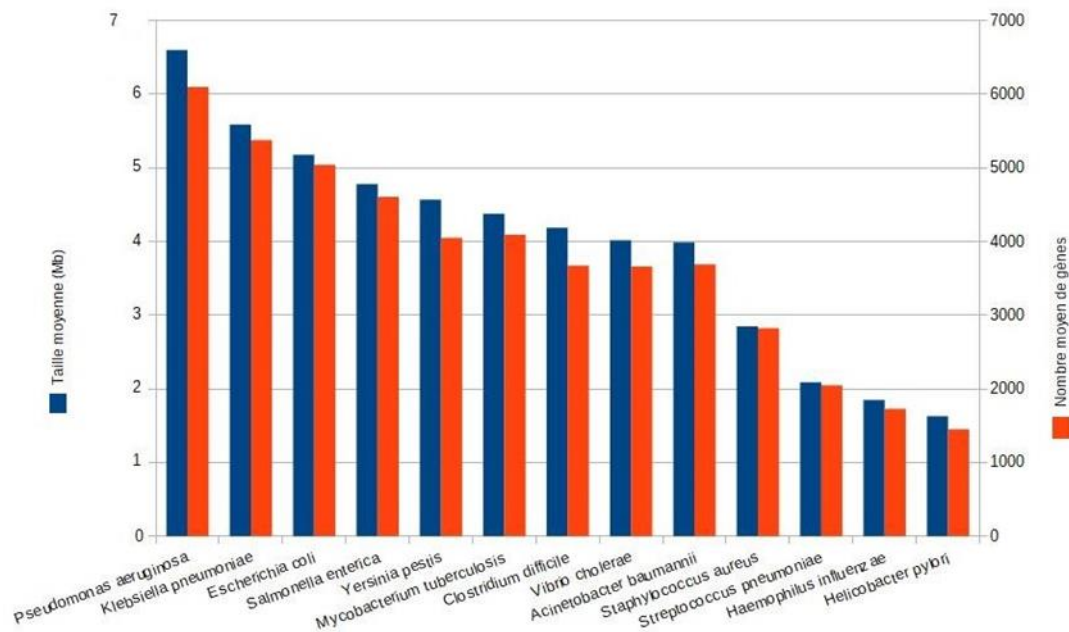


Figure 3: Tailles des génomes des principales espèces bactériennes pathogènes déposés sur le NCBI (NCBI 2017)

2. *Staphylococcus Aureus*

2.1. Historique

Les staphylocoques furent observés pour la première fois à la fin des années 1800 par Robert Koch et Louis Pasteur.

C'est à la même période que Rosenbach isolat en culture pure pour la première fois *Staphylococcus aureus* (Corne, P 2004) Ainsi en 1878, Robert Koch et Louis Pasteur décrivent des grappes de coques dans des pus d'origine humaine (pus de furoncles et d'ostéomyélites).

La même année, en Ecosse, Alexander Ogston propose le nom « Staphylococcus » (staphylê : grappe et kokkos : grain) car les bactéries se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin (Hennekinne, JA. 2009). *S. aureus* est une bactérie à la fois commensale et pathogène opportuniste (Gordon, R.J. et F.D. Lowy. 2008)

Cette espèce bactérienne peut coloniser l'humain aussi bien que plusieurs espèces animales comme le porc, le sanglier ainsi que le cerf rouge. (Burns, A., et al 2014 Porrero, M.C., et al., 2014)

2.2.Habitat

S. aureus est un germe ubiquitaire, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement, présent chez les animaux mais son habitat préférentiel est l'homme (**Institué Pasteur. 2021**)

S. aureus semble capable de coloniser tous les mammifères. *S. aureus* colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier dans les fosses nasales (**Eveillard, 2007**), mais aussi au niveau du cuir chevelu et les mains (**Watson et al., 2006**).

2.3.Classification

Selon la classification de (**Garrity et al. 2007**), le phylum firmicutes est constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria*. La classe des *Bacilli* est constitué de deux ordres : *Bacillales* et *Lactobacillales*, dont chacun est divisé en quatre familles ; *Staphylococcaceae* constitue la 4eme famille des *Bacillales*, celles-ci comprennent un seul genre : *Staphylococcus* (GC % 30-39 %).

Cinquante espèces et sous espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus* (**Le Loir et Gautier, 2010**)

La classification de *S. aureus* est représentée sur le tableau suivant :

Tableau 02: La classification de *S. aureus* (**Denis et al. 2016**)

Règne :	Bacteria ou Eubacteria.
Phylum	Firmicutes.
Classe	Bacilli.
Ordre	Bacillales.
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcs aureus</i>

2.4.Caractères phénotypiques

2.4.1. Caractères morphologiques

Staphylococcus aureus est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* est à un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, est immobile, sporulé et facultativement anaérobique (sauf *S. aureus anaerobius*) ; il est habituellement disposé en grappes. (**Becker., et al. 2004. Delarras, 2014**).

Il est maintenant établi que *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase et une coagulase, et qui peut tolérer une activité en eau très réduite (Alioua, 2015).

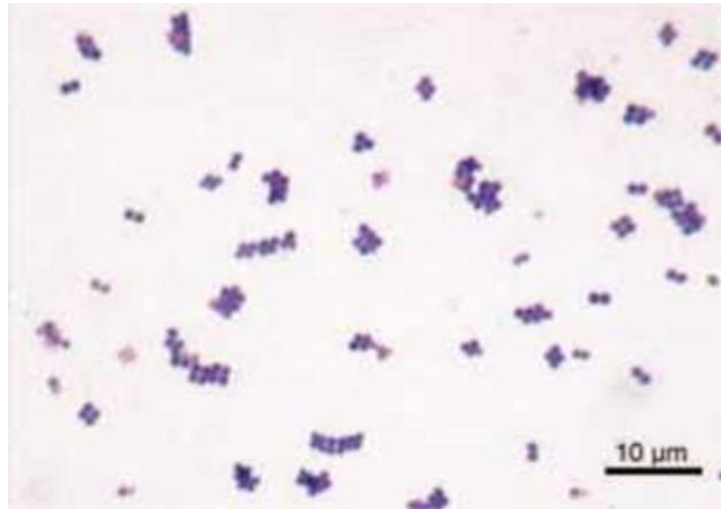


Figure 4: Aspect de *S. aureus* après une coloration de gram (Hennekinne JA. 2009)

2.4.2. Caractères biochimiques

2.4.2.1.Métabolisme

La production d'une catalase et d'une coagulase (Dougnon *et al.*, 2018) mais oxydase négative. C'est une des propriétés de *S. aureus* (Shittu A., *et al.* 2007) ainsi la production d'une endonucléase (Hu *et al.*, 2013) thermostable et la fermentation du mannitol. (Durand G. 2009)

S. aureus ne sont capable de fermenter indole mais elle est capable de fermenter acétone et produire l'enzyme d'uréase et aussi capable de réduisent le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisent de l'ammoniaque à partir de l'arginine. (Da Silva *et al.*, 2018)

S. aureus produisent des colonies dorées jaune et pigmentées, cette pigmentation est évoquée dans le nom du microbe, comme aureus signifié doré (Delarras, 2014).

2.4.3. Caractères cultureux

S. aureus sont des bactéries aéro – anaérobie facultative (elle existe une seul sous espèce est anaérobie stricte : *S. aureus* subsp. Anaerobius) (Robert, D 2013). Cette bactérie non-exigeante sont capables de croitre dans des conditions hoostiles (par exemple en bouillon hypersalé à 7% de NaCl) (Accarias,2014)

S. aureus est facilement cultivable en milieu gélosé classique tel que CBA (Columbia Blood Agar), TSA (Tryptic SSoy Agar) ou BHI (Brain Heart infusion), ainsi que dans les milieux liquides (Vitko, 2013). En bouillon de la culture sur en peu de temps tu vois, un trouble

homogène puis un dépôt sont observés, mais en milieu liquide il n'y a pas de production de pigment (**Angandza, 2012**).

S. aureus peut également être cultivé facilement en 24 heures sur milieu ordinaire (gélose trypticase-soja supplémentée ou non en sang), et aussi cultivée en milieu sélectif hypersalé (Chapman ou MSA pour Mannitol-Salt-Agar), ce qui est un milieu différentiel permettant la croissance des bactéries ciblées ou intéressantes (**Eveillard, 2007**), aussi utilisée comme milieu pour l'identification de *S. aureus* grâce à leur caractère halophile et leur capacité à fermenter le mannitol (**Accarias, 2014**).

S. aureus peut se développer à une température comprise entre 15° et 45°C et à des concentrations de NaCl jusqu'à 15 %. Cependant, des expositions prolongées au-dessus de 42°C ou en dessous de 10°C ne sont pas recommandées. Les plaques ne doivent pas être conservées plus d'une semaine à 4°C. En raison de son peptidoglycane hautement réticulé (**Accarias, 2014**).

2.4.4. Caractères antigéniques

Les bactéries *Staphylococcus aureus* utilisent une vaste gamme de contre-mesures moléculaires pour manipuler le microenvironnement défensif de l'hôte infecté et coloniser potentiellement n'importe quel tissu.

Les polypeptides sécrétés appelés superantigènes sont uniques parmi ces contre-mesures, car ils ciblent la communication multiréceptrice entre les cellules T et les cellules présentatrices d'antigène qui est fondamentale pour initier la clairance immunitaire spécifique à l'agent pathogène.

Les superantigènes jouent un rôle essentiel dans le syndrome de choc toxique et les intoxications alimentaires, mais leur fonction dans les infections de routine n'est pas bien comprise.

Alors qu'une association de superantigènes avec des cas de maladies auto-immunes humaines semble alléchante, des données convaincantes ne sont pas encore disponibles.

Le blocage de la reconnaissance des lymphocytes T spécifiques à l'antigène est la principale force motrice évolutive derrière la sélection des superantigènes, alors que les pathologies spécifiques aux superantigènes sont des sous-produits qui n'apparaissent que dans certaines conditions. (**Robert G. 2000**)

2.4.5. Caractères génotypiques

Le génome de *S. aureus* peut être divisé en deux : le 'core' génome (génome cœur) et le génome accessoire (**Chua, K.Y., et al. 2014 Albano, B., et al. 2014**).

Le premier est l'ensemble des gènes que ne trouvez dans toutes les souches de *S. aureus*. Ce génome contient différents gènes de ménage, gènes nécessaires à la croissance ainsi que quelques gènes codant pour des facteurs de virulence (**Chua, K.Y., et al. (2014) Alibayov, B., et al. 2014**).

Le génome accessoire de *S. aureus* est l'ensemble des gènes présents uniquement dans une souche étudiée ainsi que ceux présents dans deux ou plusieurs souches. Il est variable et peut contenir des gènes codant pour des résistances aux antibiotiques et des facteurs de virulence comme des exotoxines ou des superantigènes. (**Chua, K.Y., et al. 2014 Alibayov, B., et al. 2014**).

Cette variabilité génomique son extraordinaire adaptabilité à divers environnements et surtout ses capacités d'échappement aux défenses de l'hôte et de résistance aux traitements antibiotiques. Toutes les souches séquencées de *S. aureus* contiennent un seul chromosome, dont la taille varie de 2.7 à 2.9 Mb.

Une première source de variabilité entre les souches provient de la présence d'éléments extra-chromosomiques, à répllication autonome, les plasmides. Ceux-ci sont très souvent porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques. Pratiquement tous les éléments du génome accessoire sont localisés sur différents vecteurs tels des plasmides et des bactériophages et peuvent influencer le comportement de la souche de *S. aureus* dont la niche écologique de ce dernier. (**Chua K.Y., et al. (2014). Moon B.Y., et al. 2015**).

Chapitre II :

Les antibiotiques

1. Les antibiotiques

1.1.Généralités

Les antibiotiques sont des substances chimiques ou des composés naturels capables de tuer ou d'inhiber la croissance de certaines bactéries. **(Bhattacharjee, M. K., 2016)**. Ils sont utilisés pour traiter les infections bactériennes chez les humains et les animaux. **(Bhattacharjee, M. K., 2016)**.

Les antibiotiques sont spécifiques aux bactéries et n'ont pas d'effet sur les virus, les champignons ou les parasites. Ils peuvent être administrés par voie orale, injectable ou topique, et sont classés en fonction de leur mode d'action, de leur spectre d'activité et de leur durée d'action. (Mehdi. S. 2008). Les antibiotiques ont été découverts dans les années 1920-1930 et ont révolutionné la médecine en permettant le traitement efficace de nombreuses infections bactériennes qui étaient auparavant souvent mortelles. **(Mohr, K. I. 2016)**. Cependant, l'utilisation excessive ou inappropriée d'antibiotiques peut entraîner l'apparition de résistances bactériennes, ce qui peut rendre les infections plus difficiles à traiter. **(Bhattacharjee, M. K., 2016 ; Mehdi. S., 2008)**

1.1.1. Historique

Découverte et développement des antibiotiques

La découverte des antibiotiques est attribuée à Alexander Fleming en 1928, lorsqu'il a observé la croissance de moisissures dans une culture de bactéries et a remarqué qu'une des moisissures, *Penicillium notatum*, avait un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne environnante. Cette observation a conduit à la découverte de la pénicilline, le premier antibiotique, qui a été isolé et purifié par Howard Florey et Ernst Chain en 1940. La pénicilline a révolutionné le traitement des infections bactériennes et a sauvé de nombreuses vies. **(Mohr, K. I. 2016 ; Institut de pasteur .2014)**

Depuis lors, de nombreux autres antibiotiques ont été découverts, chacun ayant une efficacité et un spectre d'action différents contre les bactéries. Cependant, l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques a conduit à l'apparition de résistances bactériennes, ce qui est devenu un problème majeur de santé publique. **(Hutchings, M. I., 2019)**.

1.2.Types des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être d'origine synthétique ou naturelle

1.2.1. L'antibiotique origine naturelle

De nombreux antibiotiques ont une origine naturelle et sont produits par des micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et des actinomycètes. Les micro-organismes produisent des antibiotiques pour se défendre contre d'autres micro-organismes dans leur environnement. **(Bérdy, J. 2012).**

Voici quelques exemples d'antibiotiques d'origine naturelle :

- La pénicilline, le premier antibiotique, est produite par une moisissure appelée *Penicillium notatum*. **(Mohr, K. I. 2016).**
- La streptomycine, utilisée pour traiter la tuberculose, est produite par une bactérie appelée *Streptomyces griseus*. **(Schneider, J *et al.*, 2012)**
- La tétracycline, utilisée pour traiter les infections bactériennes, est produite par une bactérie appelée *Streptomyces aureofaciens*. **(Nelson, M. L., & Levy, S. B. 2011).**
- L'érythromycine, un antibiotique macrolide, est produite par une bactérie appelée *Saccharopolyspora erythraea*. **(Liu, J *et al.*, 2017)**
- La vancomycine, utilisée pour traiter les infections résistantes aux antibiotiques, est produite par une bactérie appelée *Streptomyces orientalis*. **(Moellering Jr, R. C., & Ferraro, M. J. 2012)**

De nombreux autres antibiotiques d'origine naturelle ont été découverts et utilisés pour traiter les infections bactériennes. Cependant, en raison de l'utilisation excessive d'antibiotiques, de nombreuses bactéries ont développé une résistance aux antibiotiques d'origine naturelle, ce qui a conduit à la recherche et au développement d'antibiotiques synthétiques et semi-synthétiques. **(Varaprasad *et al.*, 2020).**

1.2.2. L'antibiotique Origine synthétique

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, Il a été développé dans les années 1950 et est fabriqué à partir de produits chimiques de synthèse. **(Donadio S *et al.*, 2010).**

1.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés en fonction de plusieurs facteurs, notamment leur structure chimique, leur mécanisme d'action, leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques. Voici quelques classifications courantes d'antibiotiques résumé sur ce tableau. (Munck, 2014 et BOULAHBAL, 2006)

Tableau 03: Classification des antibiotiques

Classe d'antibiotiques	Exemple		Cible
Bêta-lactamines	- Pénicillines (ampicilline)	- Pénicillines G - Pénicillines V - Pénicillines à action semi-retard - Pénicillines M - Pénicillines A	Synthèse de la paroi cellulaire
	- Céphalosporines (céfotaxime)	- De 1ère génération - De 2ème génération - De 3ème génération - De 4ème generation	
	- Carbapénèmes (méropénème)	- Doripenem - Imipenem - Meropenem	
Quinolones	Acide nalidixique, Ciprofloxacine		Gyrase / topoisomérase IV
Aminoglycosides	Streptomycine, gentamicine, amikacine		Sous-unité ribosomale 30S / membrane cellulaire
Macrolides	Erythromycine, Azithromycine		Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S
Tetracycline	Tetracycline, Tigecycline		Liaison de l'ARNt dans la sous-unité ribosomique 30S
Oxazolidinones	Linezolide		Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S sous-unité
Phenicol	Chloramphénicol		Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S sous-unité
Lincosamide	Clindamycine, Lincomycine		Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S
Sulfonamides	Sulfamethoxazole		Synthèse du tétrahydrofolate
Benzylpyrimidine	Trimethoprime		Synthèse du tétrahydrofolate
Rifamycin	Rifampicine		ARN polymérase
Nitroimidazoles	Metronidazole		Dommages généraux à l'ADN
Nitrofurans	Nitrofurantoine		Dommages généraux à l'ADN
Lipopeptide	Daptomycine		Membrane cellulaire
Glycopeptide	Vancomycine		Synthèse de la paroi cellulaire

1.4. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections bactériennes en tuant ou en arrêtant la croissance des bactéries responsables de l'infection. Les différents types d'antibiotiques ont des modes d'action spécifiques, mais en général, ils agissent de l'une des quatre manières suivantes :

1.4.1. Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire.

Certains antibiotiques, tels que la pénicilline et la céphalosporine, agissent en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries. Cela affaiblit la structure de la bactérie, la rendant plus vulnérable aux forces physiques et chimiques extérieures et entraîne finalement sa mort. **(Kirmusaoğlu, S.,2019)**

1.4.2. Inhibition de la synthèse des protéines.

Les antibiotiques tels que la tétracycline et l'érythromycine empêchent la synthèse des protéines bactériennes. Les protéines sont essentielles pour la croissance et la survie de la bactérie, et en les empêchant de se former, ces antibiotiques inhibent la croissance bactérienne et entraînent finalement la mort de la bactérie. **(Kirmusaoğlu, S.,2019)**

1.4.3. Perturbation de la membrane cellulaire.

Certains antibiotiques, comme les polymyxines, agissent en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, ce qui entraîne la fuite de substances vitales de la cellule et finalement la mort de la bactérie. **(Kirmusaoğlu, S.,2019)**

1.4.4. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques.

Les antibiotiques tels que la rifampicine et la quinolone agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques bactériens. Les acides nucléiques sont essentiels pour la croissance et la multiplication bactériennes, et en les empêchant de se former, ces antibiotiques empêchent la bactérie de se répliquer et entraînent finalement sa mort. **(Kapoor et al., 2017)**

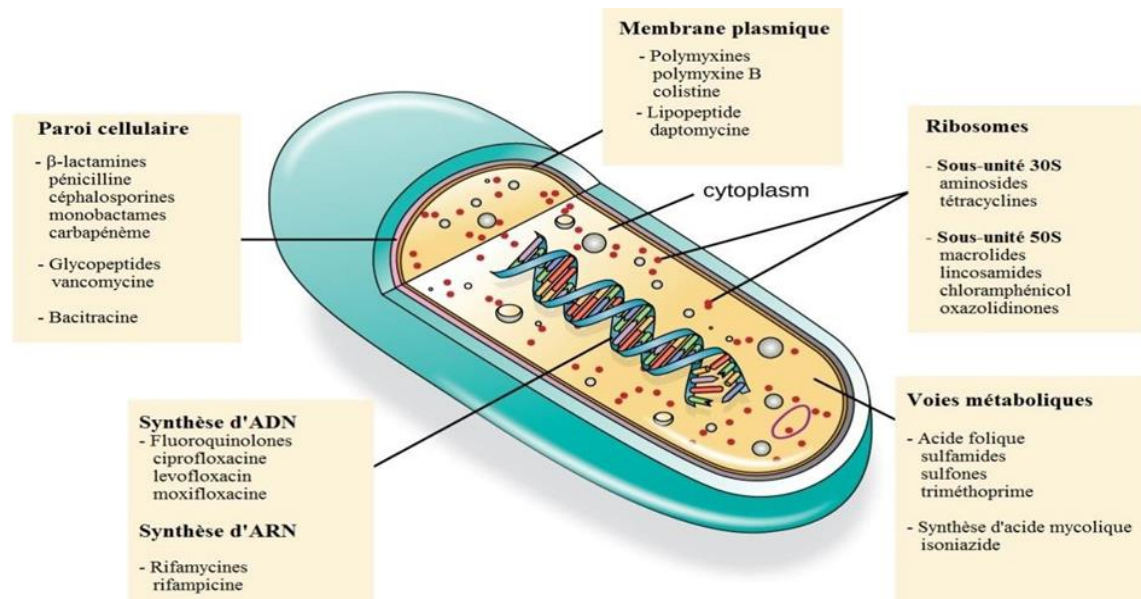


Figure 5: Cibles des principaux antibiotiques. (Parker *et al.*, 2016)

1.5. Paramètres d'activité d'un antibiotique.

L'analyse de l'activité d'un antibiotique donné sur une bactérie a conduit à définir un certain nombre de paramètres qualitatifs et quantitatifs, pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition en mm et en déduit la sensibilité ou la résistance. On définit deux concentrations critiques d'antibiotique. (Basli, A *et al.*, 2012)

1.5.1. Concentration minimale inhibitrice.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien (comme un antibiotique) nécessaire pour inhiber la croissance d'un micro-organisme spécifique. La CMI la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) totalement la multiplication bactérienne, après 18 à 24 heures de contact à 37 °C. (Basli, A *et al.*, 2012)

1.5.2. Concentration minimale bactéricide.

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien (comme un antibiotique) qui tue complètement une souche bactérienne spécifique. Contrairement à la CMI, qui mesure la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne, la CMB mesure la concentration minimale nécessaire pour tuer complètement les bactéries. (Basli, A *et al.*, 2012)

1.6. Les macrolides

1.6.1. Définition

Les macrolides sont une classe d'antibiotiques qui agissent en inhibant la synthèse des protéines bactériennes. Les macrolides sont constitués de grandes molécules lactoniques macrocycliques qui sont produites par des microorganismes tels que *Streptomyces* et *Saccharopolyspora*.

Ils sont utilisés pour traiter une variété d'infections bactériennes telles que les infections des voies respiratoires supérieures et inférieures, les infections cutanées, les infections sexuellement transmissibles et les infections gastro-intestinales. (Omura, S. 2002). Les exemples de macrolides incluent l'érythromycine, la clarithromycine, l'azithromycine, la roxithromycine et la spiramycine. (Nicolaou, K. C. 1977)

1.6.2. Classification

D'après (Bryskier et Bergogne-Berezin 2005) Les macrolides sont une classe d'antibiotiques qui sont généralement classés en trois groupes en fonction de leur structure chimique :

- Les 14-membres de la famille des macrolides, qui comprennent l'érythromycine, la dirithromycine et la clarithromycine.
- Les 15-membres de la famille des macrolides, qui comprennent l'azithromycine, la roxithromycine et la josamycine.
- Les 16-membres de la famille des macrolides, qui comprennent la spiramycine et la midecamycine.

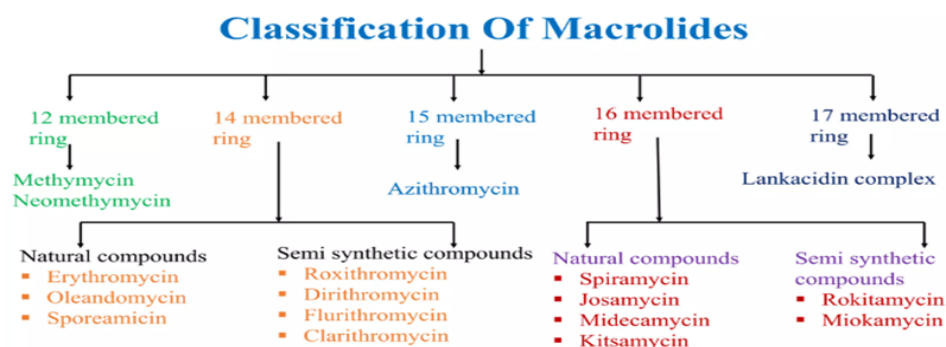


Figure 6: Classification des macrolides (Bryskier et Bergogne-Berezin 2005)

1.6.3. Structure chimique générale des macrolides commercialisés

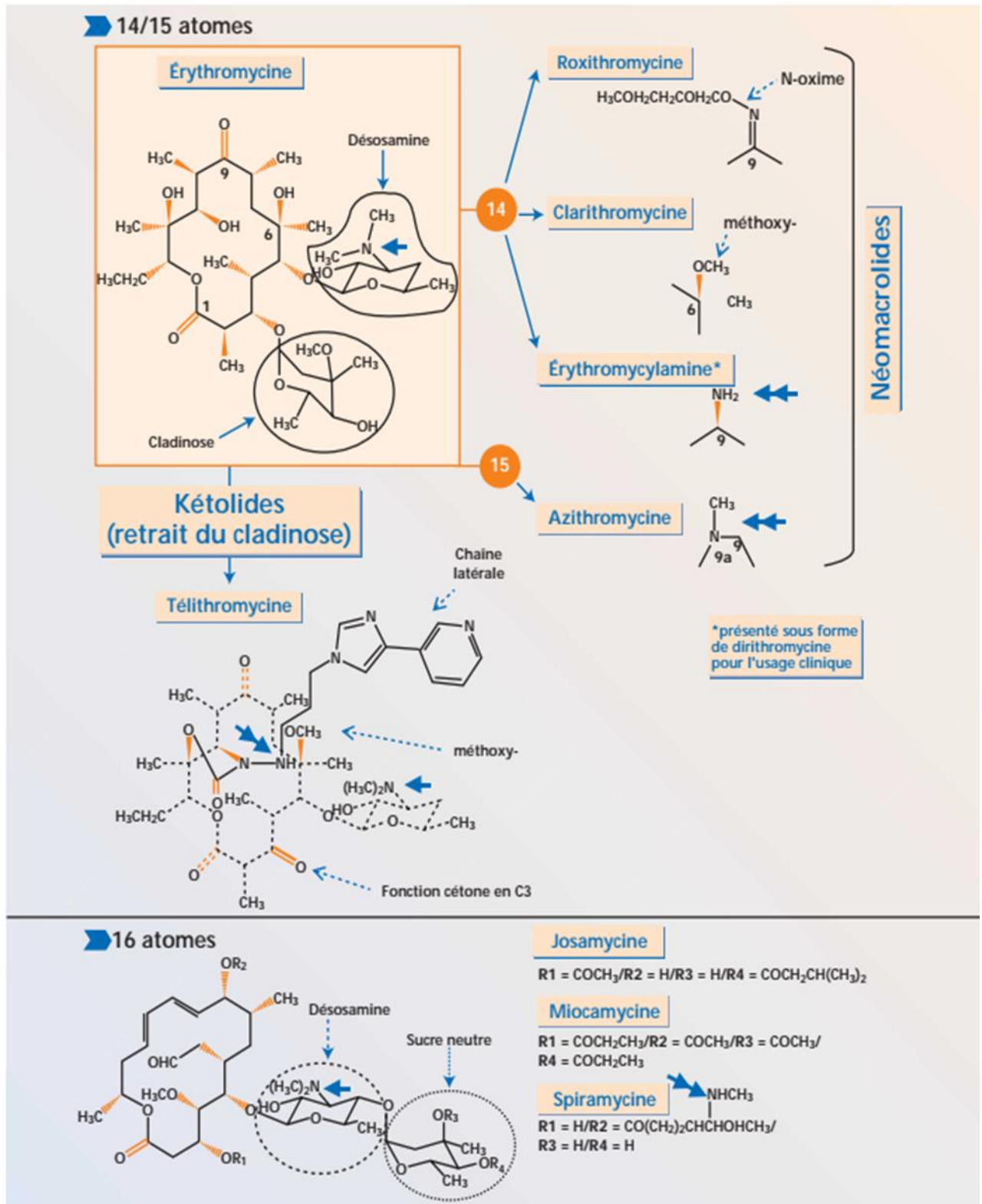


Figure 7: Structure chimique générale des macrolides commercialisées (F. Van Bambeke et al.,2001)

1.6.4. Erythromycine et spiramycine

L'érythromycine est efficace contre un large éventail de bactéries et est souvent utilisée pour traiter les infections respiratoires, les infections cutanées et les infections gastro-intestinales. **(Juda, M *et al.*, 2016)**

La spiramycine, quant à elle, est souvent utilisée pour traiter les infections respiratoires et les infections génitales chez les femmes enceintes et allaitantes **(F. Van Bambeke *et al.*, 2001)**

Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes : S \leq 1 mg/l et R $>$ 4 mg/l. **(vidal.fr)**

1.6.5. Les espèces sensibles

Les espèces sensibles à l'érythromycine et à la spiramycine sont des bactéries Gram-positives telles que *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae* et *Clostridium perfringens*. **(Bonnet, R *et al.*, 2013)**

Elles incluent également certaines bactéries Gram-négatives, notamment *Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*. Cependant, de nombreuses souches de ces bactéries sont maintenant résistantes à ces antibiotiques en raison de l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques au fil des ans.

Il est important de noter que chaque espèce bactérienne peut avoir des sous-types qui sont résistants à l'érythromycine et à la spiramycine, donc le choix de l'antibiotique dépendra de la sensibilité spécifique de la souche bactérienne isolée. **(Bonnet, R *et al.*, 2013)**

Tableau 04 : CMI des macrolides vis-à-vis de bactéries d'intérêt clinique (F. Van Bambeke *et al.*, 2001)

Espèce	CMI mg/l								
	Érythromycine	Roxithromycine	Clarithromycine	Érythromyclamine	Azithromycine	Miocamycine	Josamycine	Spiramycine	Télithromycine
<i>Staphylococcus aureus</i> (mécilline-sensible)	0,1-0,5	0,2-0,5	0,06-0,5	0,02-2	0,02-1	0,5-4	0,25-64	0,25-64	0,03-0,06
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,03-0,06	0,03-0,06	0,015	0,06-0,12	0,03-0,12	0,25-0,5	0,06-0,25	0,06-0,12	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,015-1	0,05-0,2	0,015-0,5	0,06-1	0,06-2	0,12-0,5	0,015-0,3	0,015-0,3	0,008-0,25
<i>Haemophilus influenzae</i>	1-8	1-8	1-8	0,2-32	0,2-4	0,1-16	4-32	4-16	2-4
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0,06	0,25	0,007	0,5	< 2		0,25	4	0,015-2
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0,1-0,5	0,5-2	0,06-2	0,1-1	0,01-0,1		0,5	4-8	0,12
<i>Legionella pneumophila</i>	0,1-1	0,06-0,5	0,1-0,5	0,5-4	0,125-0,5	0,1-0,5	0,5-1	8-64	0,03-0,12
<i>Helicobacter pylori</i>	0,1	0,07	0,03	0,06-0,5	0,2				0,5
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0,06-1	0,015-2	0,004-0,2	1	0,03-0,06	0,06			
<i>Salmonella spp</i>					4-16				
<i>Borrelia burgdorferi</i>	0,03-0,12	0,015-0,12	0,015-0,12	< 0,5	0,015-0,12				
<i>Mycobacterium avium et complex</i>	32-64	8-32	0,5-8		8-32				5

Les CMI indiquées en caractères gras italiques correspondent à celles où l'antibiotique
Considéré possède un avantage sur les autres macrolides.

Tableau 05 : Pharmacocinétique des macrolides (Pharmacomédical.org)

	Tmax (h)	Liaison Protéique (%)	Élimination urinaire (%)	Demi-vie (h)
Erythromycine ²	1	65	<10	2
Clarithromycine	1.7	70	36	3.8
Dirithromycine	3	15-30	2	44
Roxithromycine	2.2	96	>50	10
Josamycine	1	15	<10	2
Midécamycine ¹	1	<30	<5%	2
Azithromycine	2-3	20	12	40
Télithromycine	1	13	13	7-10
Spiramycine	2	10 ?	14	5

1.6.6. Mécanisme d'action des macrolides

Les macrolides sont une classe d'antibiotiques qui agissent en inhibant la synthèse des protéines bactériennes. Ils se lient spécifiquement à la sous-unité 50S du ribosome bactérien, empêchant ainsi la formation des liaisons peptidiques entre les acides aminés et inhibant la croissance bactérienne. (Gaynor, M., & Mankin, A. S. 2003)

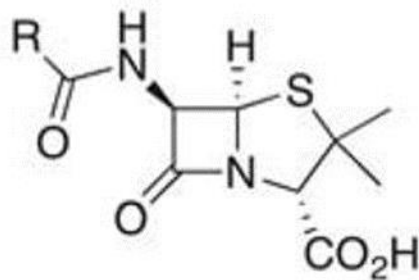
En outre, les macrolides ont également des effets immunomodulateurs, en réduisant la production de cytokines inflammatoires et en stimulant la production de cytokines anti-inflammatoires, ce qui peut contribuer à leur efficacité dans le traitement des infections bactériennes et virales. (Kanoh, S., & Rubin, B. K. 2010)

Les macrolides sont également connus pour leur action sur certains types de cellules immunitaires, comme les macrophages et les lymphocytes, en modulant leur fonctionnement et leur activité. (Tamaoki, J. 2004)

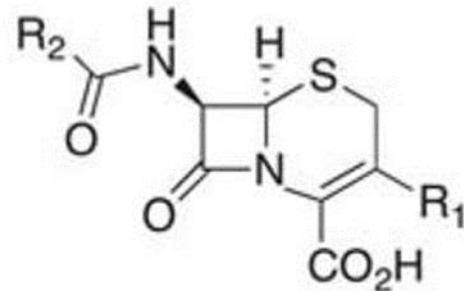
I.7. β -lactamines

Selon. (Lima, L. M *et al.*, 2020) Les bétalactamines rassemblent l'ensemble des médicaments antibiotiques dont la structure chimique comporte un noyau bêta-lactame (d'où leur nom)

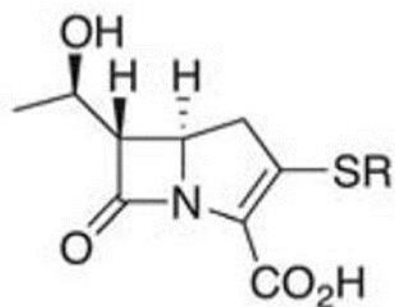
- Les pénicillines ou pénames qui ont été les premières bétalactamines disponibles : les pénicillines G et V ; les pénicillines A ; les pénicillines M ; les carboxypénicillines ; les uréidopénicillines.
- Les céphalosporines ou céphèmes : les céphalosporines de première génération ; les céphalosporines de deuxième génération ; les céphamycines ; les céphalosporines de troisième génération.
- Les carbapénèmes.
- Les monobactames



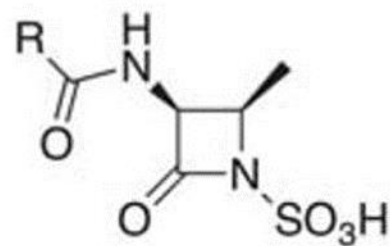
Penicillin



Cephalosporin



Carbapenem



Monobactam

Figure 8: Structure des différentes classes d'antibiotiques β -lactamines (Worthington, R. J., & Melander, C. 2013)

Timeline of β -Lactam antibiotics

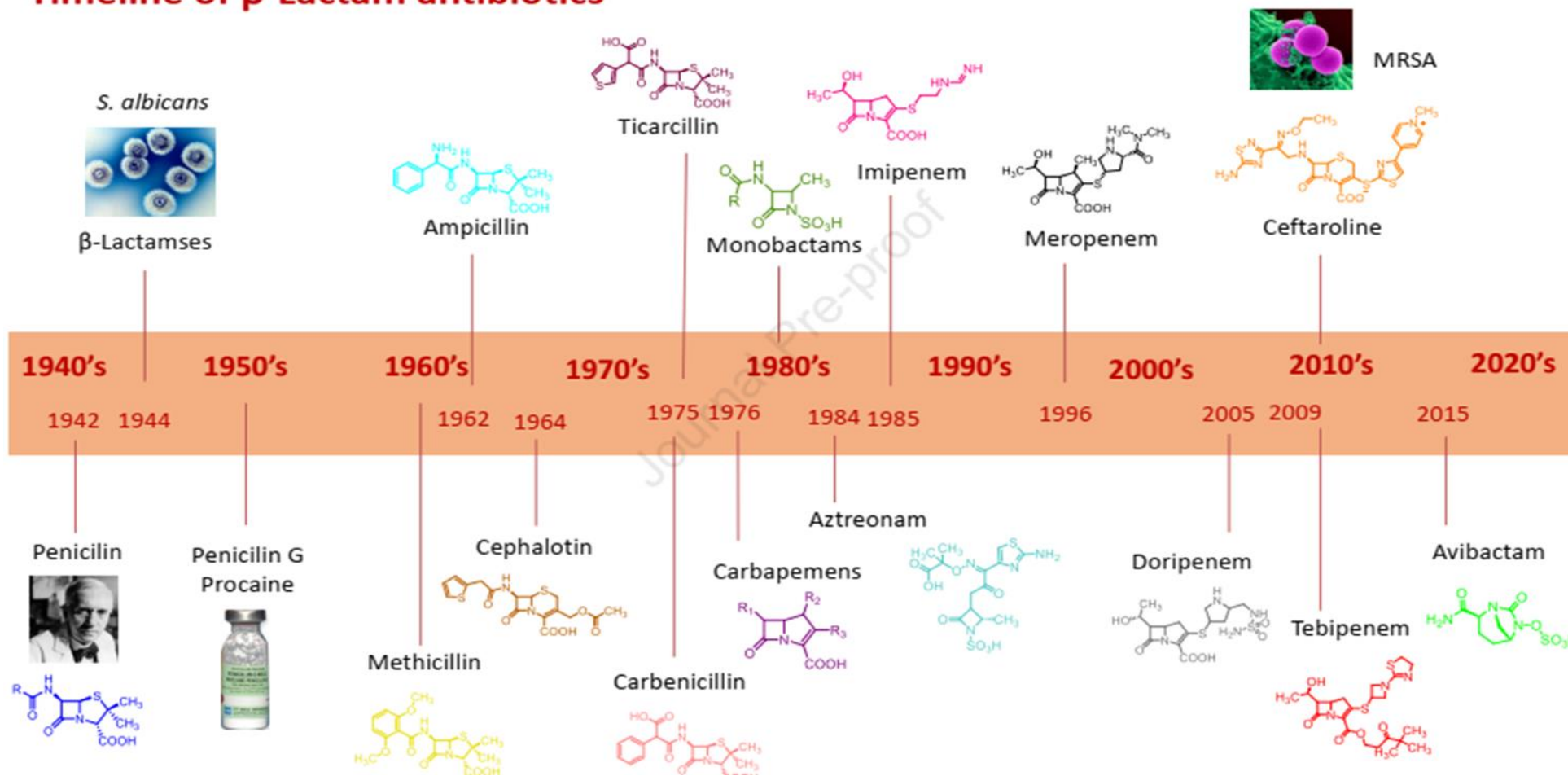


Figure 9: La révolution β -lactamines. (Lima, L. M et al., 2020)

1.7.1. Mode d'action des β -lactamines

Les bêta-lactamines sont une classe d'antibiotiques qui agissent en ciblant la paroi cellulaire des bactéries.

Les bactéries ont une paroi cellulaire externe qui les protège et leur donne leur forme caractéristique. Cette paroi cellulaire est composée de peptidoglycane, une molécule qui forme un réseau tridimensionnel autour de la bactérie. (Cavallo, J.-D *et al.*,2004)

Même auteur indiqué que Les bêta-lactamines agissent en inhibant une enzyme appelée transpeptidase, qui est responsable de la synthèse du peptidoglycane. En bloquant cette enzyme, les bêta-lactamines empêchent la formation de la paroi cellulaire et affaiblissent la bactérie, laissant les enzymes de lyse bactérienne telles que le lysozyme de l'hôte détruire la bactérie.

Cela peut finalement conduire à la mort de la bactérie, en particulier si la bactérie se divise rapidement, ce qui est souvent le cas lors d'une infection. Les bêta-lactamines sont particulièrement efficaces contre les bactéries à Gram positif, qui ont une paroi cellulaire plus épaisse que les bactéries à Gram négatif.

Cependant, certaines bactéries à Gram négatif peuvent également être sensibles aux bêta-lactamines, en fonction de leur structure de paroi cellulaire.

Les bêta-lactamines sont utilisées pour traiter une grande variété d'infections bactériennes, telles que les infections des voies respiratoires, les infections urinaires, les infections de la peau et les infections de l'oreille. (Lima, L. M *et al.*,2020)

2. La résistance des antibiotiques

L'activité antibactérienne des bêta-lactamines est suffisamment puissante pour tuer les bactéries susceptibles d'y être affectées, ce qui en fait des composés antibiotiques bactéricides. Plusieurs types de bactéries qui causent des maladies sont affectés par les effets antibactériens des bêta-lactamines. (Wilke, M. S *et al.*, 2005)

Ils agissent en bloquant la formation de la paroi bactérienne, ce qui empêche la croissance et la reproduction des bactéries de nombreux composés avec des structures chimiques différentes et des utilisations médicales diverses composent la grande classe des bêta-lactamines. (Wilke, M. S *et al.*, 2005)

2.1. Généralités

La résistance aux antibiotiques est un phénomène où les bactéries deviennent résistantes aux effets des antibiotiques, ce qui rend ces médicaments inefficaces pour traiter les infections bactériennes. Ce phénomène est dû à la capacité des bactéries à évoluer et à s'adapter aux médicaments utilisés pour les combattre. **(Martinez, J. L. 2014)**

L'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques est un facteur important de la résistance aux antibiotiques. Lorsque les antibiotiques sont utilisés à tort ou de manière excessive, ils peuvent favoriser la survie de bactéries résistantes et leur multiplication, ce qui peut conduire à l'apparition de souches de bactéries de plus en plus résistantes aux médicaments. **(Ventola, C. L. 2015).**

La résistance aux antibiotiques est un problème de santé publique mondial, car elle compromet l'efficacité des traitements antibiotiques et peut rendre les infections bactériennes plus difficiles à traiter, voire impossibles à soigner. Les gouvernements, les professionnels de la santé et le grand public sont encouragés à prendre des mesures pour lutter contre la résistance aux antibiotiques, telles que l'utilisation prudente et responsable des antibiotiques, la mise en place de stratégies de prévention des infections, le développement de nouveaux antibiotiques et la recherche de nouvelles approches pour traiter les infections bactériennes. **(Ravelli, Q. 2014).**

2.2. Les types de résistance des antibiotiques.

Il existe plusieurs types de résistance aux antibiotiques, qui peuvent se manifester de différentes manières chez les bactéries. Voici quelques exemples de types de résistance :

2.2.1. Résistance naturelle.

La résistance naturelle aux antibiotiques est une capacité inhérente à certaines espèces bactériennes qui leur permet de résister à certains antibiotiques sans avoir besoin d'acquérir de nouveaux gènes ou mécanismes de résistance. **(Veyssiere, Anaïs, Jennifer. 2019).**

Cette résistance est souvent due à la structure ou à la fonctionnalité de la membrane cellulaire de la bactérie, qui peut empêcher l'antibiotique d'entrer dans la cellule ou limiter son efficacité. **(Todar, K. 2011).**

2.2.2. Résistance acquise.

La résistance acquise aux antibiotiques est le résultat de modifications génétiques chez les bactéries, qui leur permettent de résister aux effets des antibiotiques. Cette résistance peut être acquise par divers mécanismes, notamment : **(Veyssiere, Anaïs, Jennifer. 2019).**

- **Mutations spontanées** : les bactéries peuvent subir des mutations aléatoires qui leur confèrent une résistance aux antibiotiques.
- **Transfert horizontal de gènes** : les bactéries peuvent échanger des fragments d'ADN avec d'autres bactéries, ce qui leur permet d'acquérir des gènes de résistance.
- **Utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques** : l'utilisation inadéquate des antibiotiques peut favoriser la sélection des bactéries résistantes.

2.2.3. Résistance croisée.

La résistance croisée des antibiotiques se produit lorsque des bactéries résistantes à un antibiotique particulier deviennent également résistantes à d'autres antibiotiques ayant des mécanismes d'action similaires.

Cela peut se produire lorsque les gènes de résistance sont codés sur des plasmides ou des transposons qui peuvent être facilement transférés entre différentes espèces de bactéries (**Lázár, V et al.,2014**)

2.2.4. Efflux.

L'efflux des antibiotiques est un mécanisme de résistance acquis par les bactéries, qui leur permet de pomper activement les antibiotiques hors de la cellule avant qu'ils ne puissent agir.

Ce mécanisme de résistance est courant chez de nombreuses bactéries Gram-négatives, qui ont une membrane externe imperméable qui protège leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique des antibiotiques. (**Li, X. Z et al.,2015**)

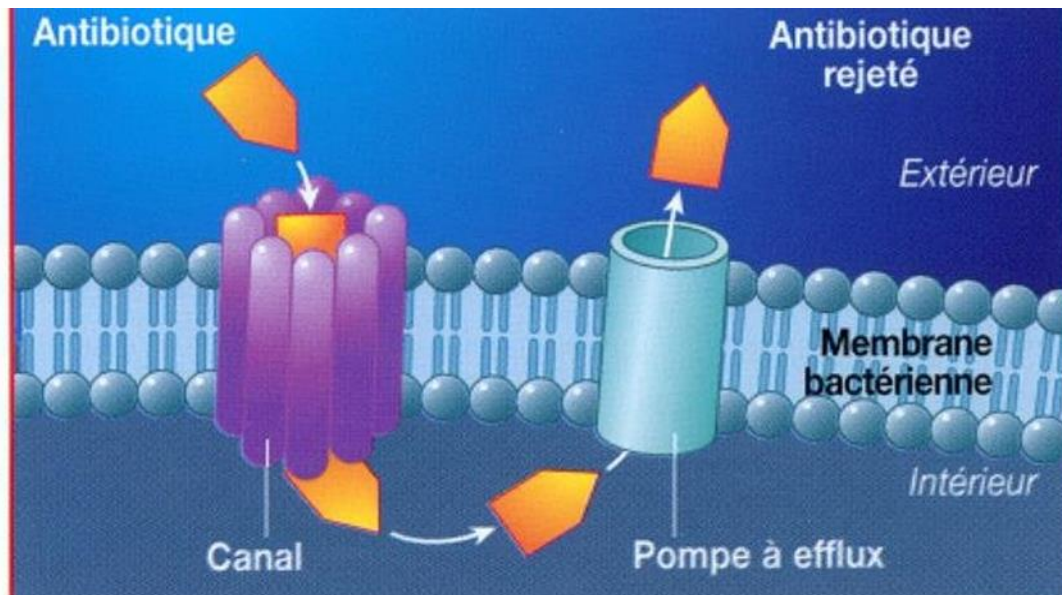


Figure 10: Système d'efflux actif (Mousse, W. 2016).

2.2.5. Résistance par voie enzymatique.

L'une des façons dont les bactéries peuvent devenir résistantes aux antibiotiques est par l'utilisation d'enzymes appelées bêta-lactames. Les bêta-lactamases sont des enzymes qui dégradent les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, tels que la pénicilline et la céphalosporine. (Bouguenoun, 2017)

2.2.6. Mécanismes non-enzymatiques

La bactérie se défend contre les antibiotiques sans utiliser les enzymes par modification de la cible, imperméabilité, hyperproduction de systèmes d'efflux. (Bouguenoun, 2017)

La figure 11. Illustre les principaux moyens de résistance bactérienne face aux antibiotique.

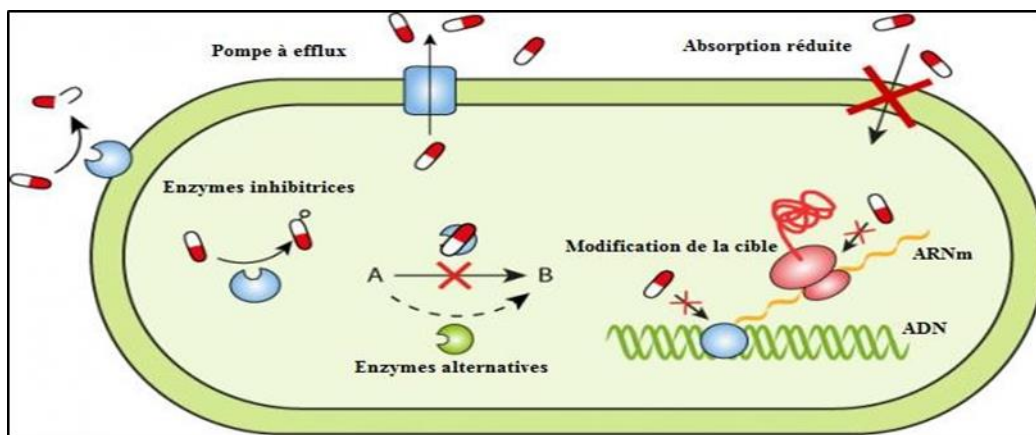


Figure 11: Principaux moyens de résistance aux antibiotiques (Wistrand-Yuen *et al.*, 2018)

2.3. La résistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie gram-négative qui est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques en raison de sa capacité à former des biofilms et à développer des mécanismes de résistance. Les infections causées par *P. aeruginosa* sont souvent difficiles à traiter en raison de cette résistance naturelle et acquise aux antibiotiques. (Pang, Z *et al.*, 2018)

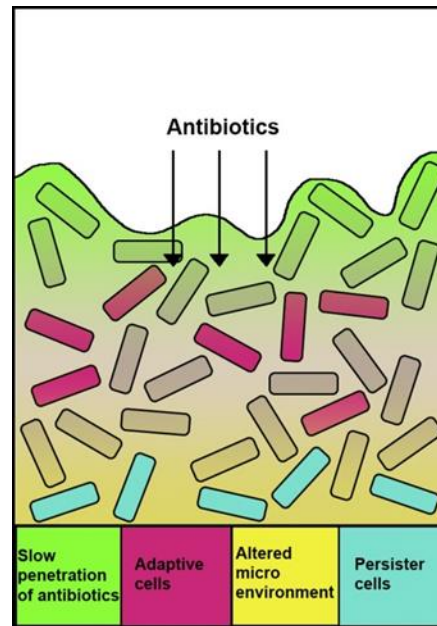


Figure 12: Mécanismes de la résistance aux antibiotiques médiée par le biofilm. (Pang, Z *et al.*, 2018)

Explication de schéma

Les antibiotiques pénètrent lentement dans le biofilm (vert) ; Certaines cellules du biofilm expriment une réponse de stress adaptative permettant de survivre dans des conditions difficiles (rouge) ; Le microenvironnement chimique modifié (jaune) à l'intérieur du Biofilm induit une croissance lente des bactéries, ce qui réduit l'absorption des antibiotiques ; Des cellules persistantes tolérantes aux médicaments sont formées (bleu).

La résistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* peut être due à plusieurs mécanismes, tels que la production d'enzymes de dégradation des antibiotiques, l'efflux des antibiotiques hors de la cellule bactérienne et la modification de la cible de l'antibiotique.

De plus, *P. aeruginosa* est capable d'acquérir de nouvelles résistances aux antibiotiques par transfert de gènes entre bactéries. (Lambert, P. 2002)

La multirésistance chez *P. aeruginosa* est habituellement décrite comme la résistance ou la diminution de la sensibilité à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages. β -lactamines hors carbapénèmes sauvages, *ampC* est réprimé de façon complexe par les produits des gènes qui lui sont associés, *ampR* et *ampD*, et n'est que faiblement exprimé. (Pang, Z *et al.*, 2018)

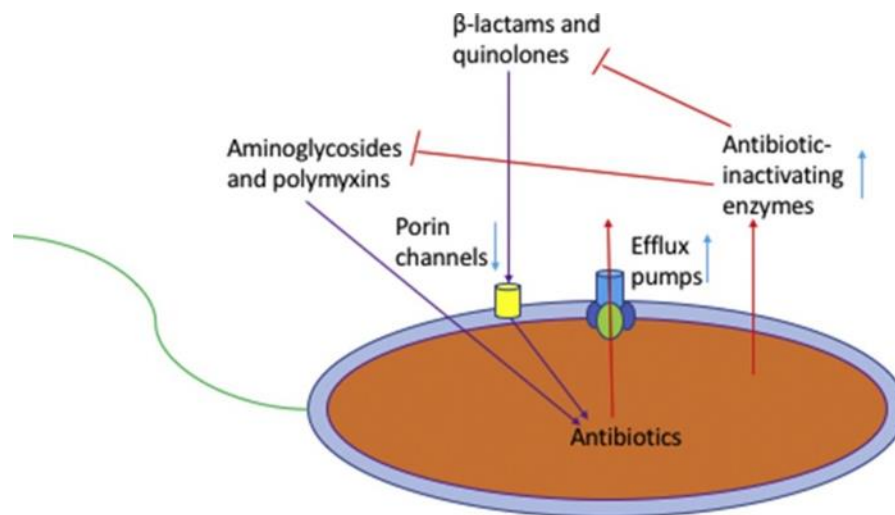


Figure 13: Une représentation schématique des mécanismes de résistance antibiotique intrinsèque chez *P. aeruginosa*. (Pang, Z et al., 2018)

2.4. La résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie gram-positive qui peut causer diverses infections, notamment des infections cutanées, des infections respiratoires et des infections du sang. (Miller, L. S., & Cho, J. S. 2011)

Il est crucial d'examiner toutes les voies biochimiques potentielles de résistance que les bactéries expriment avant d'enquêter sur les résistances de *S. aureus*. (Nikaido, H. 2009)

Plusieurs stratégies peuvent être utilisées par les micro-organismes pour acquérir une résistance à plusieurs médicaments.

Certaines personnes deviennent de plus en plus résistantes à tous ces médicaments antimicrobiens contre les germes pathogènes en raison de leur utilisation prolongée de ce médicament. Le schéma pour chaque type de mécanisme de résistance est montré ci-dessous (Figure 14).

Pour survivre, les micro-organismes subissent des changements mutants dans leur ADN chromosomique ou ARN, ce qui fournit une résistance.

La résistance à la méthicilline du *Staphylococcus aureus* est l'un des cas bien connus. Les parois cellulaires des microbes servent de barrières importantes et d'aide à leur survie, mais en raison d'altérations de l'ADN chromosomique ou de mutations génétiques, la composition de la paroi cellulaire ou de la membrane plasmique peut changer, ce qui favorise les phénomènes de résistance. (Mukherjee, R et al., 2021)

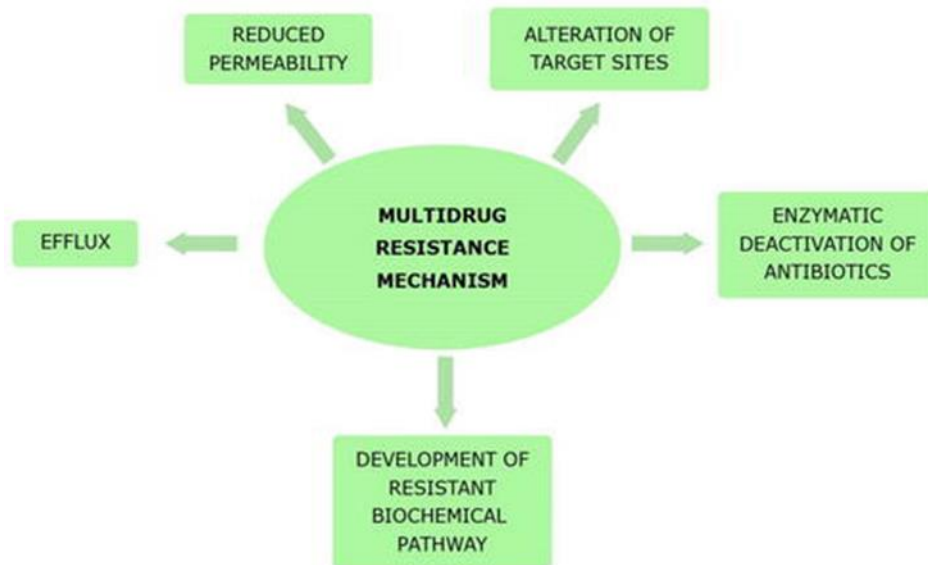


Figure 14: Mécanisme de multi résistance aux médicaments (Mukherjee, R *et al.*,2021)

L'un des principaux composants du mécanisme MDR est la pompe à efflux de médicaments.

Les transporteurs ABC (ATP Binding Cassette) sont des protéines liées à la membrane qui sont souvent appelées pompes à efflux de médicaments qui sont spécifiquement impliquées dans le transport de drogues dans les cellules. (Hiramatsu, K *et al.*,2014).

L'efflux et la perméabilité des médicaments dépendant de l'ATP sont endommagés par la glycoprotéine P ou la protéine multirésistante (MRP), ce qui provoque une diminution des concentrations intracellulaires du médicament. (Hiramatsu, K *et al.*,2014).

Chapitre III :

L'antibiogramme

Introduction

L'antibiogramme est un examen bactériologique qui permet de déterminer le profil de résistance des bactéries pour une bonne prise en charge thérapeutique des malades. Les résultats de l'antibiogramme doivent être corrects, précis et reproductibles car de leur qualité dépend l'efficacité du traitement. **(EUZEBY J. P 2010)**

Pour la réalisation de l'antibiogramme, c'est la gélose de Mueller-Hinton II qui est la gélose recommandée. **(MAURY M., 1987)**

En effet, par sa composition, ce milieu offre de bonnes conditions pour la croissance des bactéries et pour la diffusion des antibiotiques. **(OMS,1994).**

1. Généralité

1.1 Définition

L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui permet de mesurer, la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne "in vitro". Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des agents infectieux **(A. Benouda, M.R. TAGAJDID mai- Juin 2008)**

Il existe plusieurs méthodes de réalisation de l'antibiogramme dont la plus utilisée est la méthode de diffusion en milieu gélosé. **(EUZEBY J. P 2010).**

Cette méthode consiste àensemencer des bactéries sur des milieux de culture contenant différents antibiotiques et à évaluer leur croissance. **(Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. 2009).**



Figure 15:Exemple d'antibiogramme

(<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2752445-antibiogramme-definition-schema-interpretation-resultat-prelevement-sensible>).

1.2 Le but

L'antibiogramme utilisé pour déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne aux différents envisagés. Le but principal de l'antibiogramme est d'aider les médecins à sélectionner le traitement antibiotique le plus efficace pour traiter une infection bactérienne spécifique chez un patient. (OMS,2014)

Plus en détail, l'antibiogramme vise à :

- Identifier la souche bactérienne responsable de l'infection : L'antibiogramme permet de déterminer l'espèce de bactérie qui a aggravé l'infection en question.
- Déterminer la sensibilité aux préconisations : Une fois que la souche bactérienne a été identifiée, l'antibiogramme permet également de déterminer la sensibilité de cette souche à un certain nombre d'antibiotiques différents. Cela permet aux médecins de savoir quels sont susceptibles d'être efficaces contre cette souche bactérienne et donc de choisir le traitement approprié.
- Éviter l'utilisation d'antibiotiques inutiles : L'antibiogramme aide à éviter l'utilisation d'antibiotiques inutiles ou inefficaces, ce qui peut contribuer à réduire le risque de résistance aux risques. En utilisant des spécifiques qui sont efficaces contre la souche bactérienne en question, les médecins peuvent aider à prévenir le développement de résistances.
- Prévenir les infections nosocomiales

2. Les types de l'antibiogramme

L'antibiogramme est un test de laboratoire qui permet de déterminer quels sont les plus efficaces pour traiter une infection bactérienne spécifique. Il existe plusieurs types d'antibiogrammes, chacun ayant ses avantages et ses limites. (Institut des normes cliniques et de laboratoire, 2021).

2.1. Antibiogramme standard

Cet antibio test est utilisé pour déterminer la sensibilité des bactéries aux couramment utilisées. Les bactéries sont cultivées sur une plaque de Pétri contenant différents désignés, et la croissance bactérienne est évalué pour chaque antibiotique. Les résultats sont ensuite interprétés en fonction des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de chaque antibiotique.

2.2. Antibiogramme automatisé

Cet antibio test utilise des systèmes automatisés pour déterminer la sensibilité des bactéries aux intéressés. Les bactéries sont cultivées dans des Flacons contenant des spécifiques

et des capteurs mesurant la croissance bactérienne en temps réel. Les résultats sont ensuite traduits automatiquement par le système informatique.

2.3. Antibiogramme séquentiel

Cet antibio test utilise une série de plaques de Pétri contenant différents désignés, qui sont testés séquentiellement pour déterminer la sensibilité des bactéries à chaque antibiotique. Les résultats sont interprétés en fonction de la croissance bactérienne sur chaque plaque.

2.4. Antibiogramme en micro-dilution

Cet anti bio test utilise des plaques de micro-dilution contenant différentes concentrations d'antibiotiques. Les bactéries sont cultivées sur les plaques et les résultats sont interprétés en fonction des CMI de chaque antibiotique.

2.5. Antibiogramme de gradient

Cet anti bio test utilise des plaques de gradient qui contiennent des concentrations croissantes d'antibiotiques. Les bactéries sont cultivées sur les plaques, et la sensibilité des bactéries à chaque antibiotique est fonction de la distance de la croissance bactérienne par rapport au gradient d'antibiotique.

3. Technique de l'antibiogramme

L'antibiogramme est réalisé en plusieurs étapes, qui peut varier selon la méthode utilisée. Voici les étapes générales de l'antibiogramme de diffusion sur disque, qui est la méthode la plus courante :

3.1. Prélèvement de l'échantillon clinique

Un échantillon clinique, tel que du sang, de l'urine ou des sécrétions, est prélevé sur le patient et transporté au laboratoire dans des conditions appropriées. (**Emanuel G et al. 2015**)

3.2. Culture bactérienne Culture bactérienne

L'échantillon clinique est placé sur un milieu de culture bactérienne et incubé à une température et pendant une durée appropriée pour permettre la croissance des bactéries.

3.3. Identification de la souche bactérienne

Les bactéries sont révélées à l'aide de tests biochimiques ou de la spectrométrie de masse pour déterminer le genre et l'espèce bactérienne responsables de l'infection. (**Bailey and Scott's ed. Forbes et al. (2013) et "Topley and Wilson's ed. Borriello et al. 2010**).

3.4. Préparation des disques d'antibiotiques

Des disques contenant différents supposés sont placés sur la surface de la culture bactérienne, généralement en utilisant une plaque de Petri. **(Emanuel Goldman et Lorrence H. Green 2015)**

3.5. Incubation

La plaque de Petri est incubée à une température et pendant une durée appropriée pour permettre la croissance des bactéries en présence des Possibles. **(Bailey and Scott's ed. Forbes al. 2013 et Topley and Wilson's ed. Borriello al. 2010).**

3.6. Mesurée les zones d'inhibition

Après l'incubation, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque disque d'antibiotique sont mesurées à l'aide d'un calibre ou d'une règle. La taille des zones d'inhibition est directement corrélée à la sensibilité des bactéries à l'antibiotique. **(Emanuel Goldman et Lorrence H. Green 2015 et ed. Jorgensen et al .2015)**

3.7. Interprétation des résultats

Les résultats de l'antibiogramme sont interprétés en fonction des critères établis par les normes du laboratoire ou des recommandations nationales et internationales. Les bactéries peuvent être classées comme sensibles, intermédiaires ou résistantes à chaque antibiotique testé. **(Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guidelines).**

4.Limites et précautions de l'antibiogramme**4.1. Limites de l'antibiogramme**

Les résultats de l'antibiogramme peuvent être influencés par divers facteurs, tels que les conditions de stockage et de transport des échantillons, la qualité des milieux de culture, et la technique de mesure utilisée.

Les résultats de l'antibiogramme peuvent varier en fonction de la souche bactérienne testée, de son niveau de résistance aux antibiotiques, ainsi que de la méthode d'antibiorésistance utilisée.

Les résultats de l'antibiogramme peuvent également être influencés par la présence d'autres microorganismes dans l'échantillon, tels que des champignons ou des virus. **(Leclercq, R., & Courvalin, P. 2011)**

5. L'interprétation de l'antibiogramme

L'interprétation des résultats de l'antibiogramme doit être réalisée avec précaution en considérant les données cliniques du patient et en prenant en compte les limites de la technique. (Jorgensen *et al.*, 2015)

L'interprétation de l'antibiogramme repose sur la mesure de la zone d'inhibition de croissance formée autour du disque d'antibiotique. La taille de cette zone est adaptée en millimètres et est un indicateur de la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé.

Généralement, une plus grande zone d'inhibition de croissance indique une plus grande sensibilité de la bactérie à l'antibiotique. Cela signifie que l'antibiotique est plus efficace pour inhiber la croissance de cette souche bactérienne spécifique.

À l'inverse, une petite zone d'inhibition de croissance indique que la bactérie est moins sensible à l'antibiotique ou qu'elle est résistante. Cela suggère que l'antibiotique est le moins efficace pour inhiber la croissance de cette souche bactérienne en particulier.

Il est important de noter que l'interprétation de l'antibiogramme ne se limite pas seulement à la taille de la zone d'inhibition. D'autres facteurs, tels que les concentrations minimales inhibitrices (CMI), peuvent également être pris en compte pour déterminer la sensibilité ou la résistance d'une bactérie à un antibiotique spécifique. (L'Organisation mondiale de la Santé (OMS), les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ou des sociétés savantes en microbiologie et en infectiologie).

Tableau 06 : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques (COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE)

Catégorie	CMI (mg/L)	Diamètre (\emptyset) (mm)
S	$CMI \leq c$	$\emptyset \geq D$
R	$CMI > C$	$\emptyset < d$
I	$Ic < CMI \leq C$	$\emptyset < d$

C : concentration critique supérieure

c : concentration critique inférieur

D : diamètre concentration critique supérieure

d : diamètre concentration critique inférieure

S : sensible

R : résistant

I : intermédiaire

\emptyset : diamètre mesuré

Partie

Expérimentale

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

La résistance bactérienne face aux antibiotiques est considérée comme un véritable majeur problème sanitaire et important mondialement mais aussi grave à l'échelle nationale due au mauvais usage des antibiotiques, qui menace la santé publique. En Algérie et récemment, les études sont basées surtout sur la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatifs.

Pour cela notre étude vise à déterminer la résistance bactérienne, en particulier chez les bactéries *Staphylococcus aureus* Gram + et *Pseudomonas aeruginosa*, Gram - aux antibiotiques appartenant aux familles des bêtalactamines et des macrolides, en utilisant des tests d'antibiogramme. Et à comprendre les mécanismes bactériens impliqués dans la résistance aux antibiotiques, Les résultats de l'étude peuvent améliorer la prescription d'antibiotiques en fonction des profils de résistance des bactéries et orienter le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre les infections bactériennes résistantes.

Ce travail a été mené au laboratoire de recherche de l'université ABBES LAGHROUR de KHENCHELA dans le cadre d'obtenir un diplôme de Master en biochimie appliquée.

1. Matériels

1.1 Matériels Biologique

L'évaluation de l'antibiogramme des différents antibiotiques choisis. Ont été testés sur deux types de souches bactériennes potentiellement pathogènes : *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie à Gram positif et *Pseudomonas aeruginosa* qui est une bactérie à Gram négatif. Ces bactéries ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'Hôpital. Les deux espèces bactériennes choisies constituent un problème majeur de santé.

1.2 Matériels de laboratoire

- Milieu de culture : gélose Mueller-Hinton (MH) stérile, bouillon nutritif stérile, solution saline physiologique stérile
- Disques d'antibiotiques : oxacilline, aztreonam, amoxicilline, spiramycine
- Équipements de laboratoire : pipette, bec bunsen, embouts stériles, écouvillons stériles, spectrophotomètre, cuves, règle, boîtes de Pétri stériles, une pince stérile
- Incubateur : pour la culture des bactéries à 37°C

Matériels et méthodes



Bec bunsen



Incubateur à 37°



Pipette pasteur



Embouts



Pipette + cuves stériles



Ecouvillons stérile



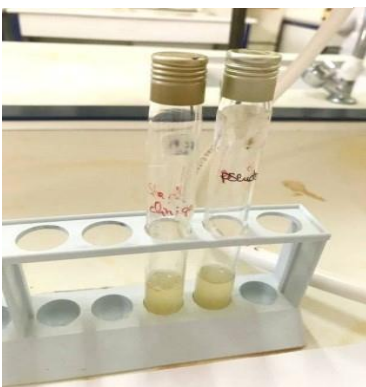
Spectrophotomètre



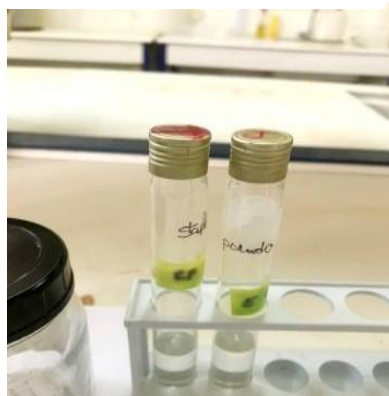
Pince stérile



Disques d'antibiotiques



**Deux tubes à essai
contiennent le bouillon
nutritif**



**Deux tubes à essai
contiennent 5 ml de solution
saline physiologique stérile**



**Boîtes de pétries contiennent
le milieu de culture mueller
hinton stérile**

Photos A : Matériels de laboratoire (Photos originales)

2. Méthode

2.1 Principales caractéristiques des souches testées

2.1.1 *Staphylococcus aureus*

Le genre *Staphylococcus* est une coque à gram positif appartenant à la famille des *Staphylococcus* immobiles, caractérisés par leurs groupements rappelant celui des grains d'une grappe de raisins. C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air et l'eau. Il est aussi un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Il est trouvé chez 15 à 30 % des individus sains au niveau de leurs fosses nasales. *Staphylococcus aureus* possède un pouvoir. Il est susceptible de sécréter différentes toxines et des enzymes qui entraînent des liaisons suppuratives et nécrotiques (**Sante médecine. Comment ça marche.net**)

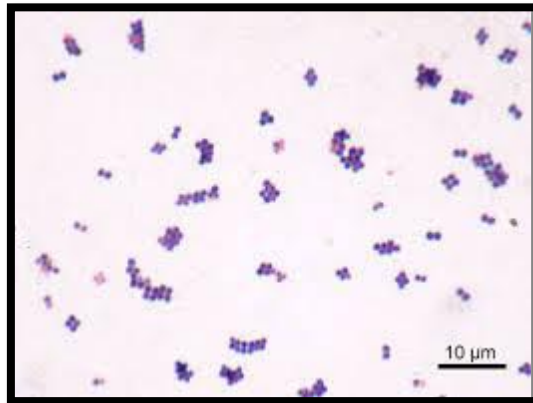


Figure 16: Aspect de *Staphylococcus aureus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Le *Pseudomonas aeruginosa*, également connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie que l'on trouve partout dans la nature, et en particulier dans les milieux humides et chauds. Habituellement, cette bactérie est peu agressive envers l'homme, mais elle peut devenir pathogène (responsable d'une maladie) dans certaines circonstances. Très résistante face aux traitements antibiotiques, elle est notamment en cause dans une part croissante des maladies nosocomiales, les maladies contractées lors d'un séjour dans une structure de soins. (**Sante médecine. Comment ça marche.net**)

Matériels et méthodes



Figure 17: Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

2.2 Evaluation de l'antibiogramme des différents antibiotiques

2.2.1 Préparation de préculture (réactivation des souches)

Les tests d'antibiogramme doivent être réalisés à partir des cultures bactériennes jeunes de 18h à 24 heures en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par l'ensemencement des deux espèces bactériennes (*P. aeruginosa* et *S. aureus*) dans un milieu liquide BN (Bouillon nutritif). Et homogénéiser à l'aide d'un vortex. Incuber les suspensions bactériennes à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation de 18h à 24h à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive GN puis incubé 18h à 24h à 37°C.



Photos B : Prélèvement d'une colonie bactérienne de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par une pipette pasteur stérilisée à l'aide d'une flamme provenant du bec bunsen avant et après chaque utilisation. **(Photos originales)**

Matériels et méthodes



Photos C : Inoculée la colonie dans 5 ml de bouillon nutritif stérile et homogénéiser, Incuber la suspension bactérienne à 37°C pendant 24 heures. **(Photos originales)**

2.2.2 Préparation de la suspension bactérienne et standardisation

A partir des cultures jeunes (18 h), sur les milieux Gélose nutritive (GN), prélever 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5ml d'eau physiologique stérile, agiter au vortex pendant quelques secondes.

La standardisation de la suspension à 10^6 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 530 nm.

Selon Mac Ferland, on admet une DO (530 nm) comprise entre 0,08 et 0,1 qui correspondent à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml ; la suspension d'inoculum est diluée à 1/10 dans de l'eau physiologique stérile pour avoir une concentration de 10^6 germes/ml.



Photo D: On a prélevé une petite quantité de la suspension bactérienne **(Photo originale)**



Photo E : On a transféré chaque suspension bactérienne dans un tube contient 5 mL d'eau physiologique **(Photo originale)**



Photo F : On a versé chaque suspension bactérienne dans une cuvette de spectrophotomètre **(Photo originale)**

Matériels et méthodes



Photos G : On a mesuré la densité optique la suspension bactérienne à l'aide du spectrophotomètre. **(Photos originales)**

2.3 Evaluation de l'antibiogramme par la méthode de diffusion par disque

2.3.1 Principe

Elle permet d'évaluer la résistance bactérienne aux différents types d'antibiotiques par la méthode de diffusion en gélose par l'utilisation des disques d'antibiotiques stériles. Elle consiste à estimer l'inhibition de la croissance des germes testés

Soumis au contact des antibiotiques (ATB) à tester, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

La technique utilisée est selon recommandations de standardisation de l'antibiogramme (CLSI, 2016). Haddouche (figure18)

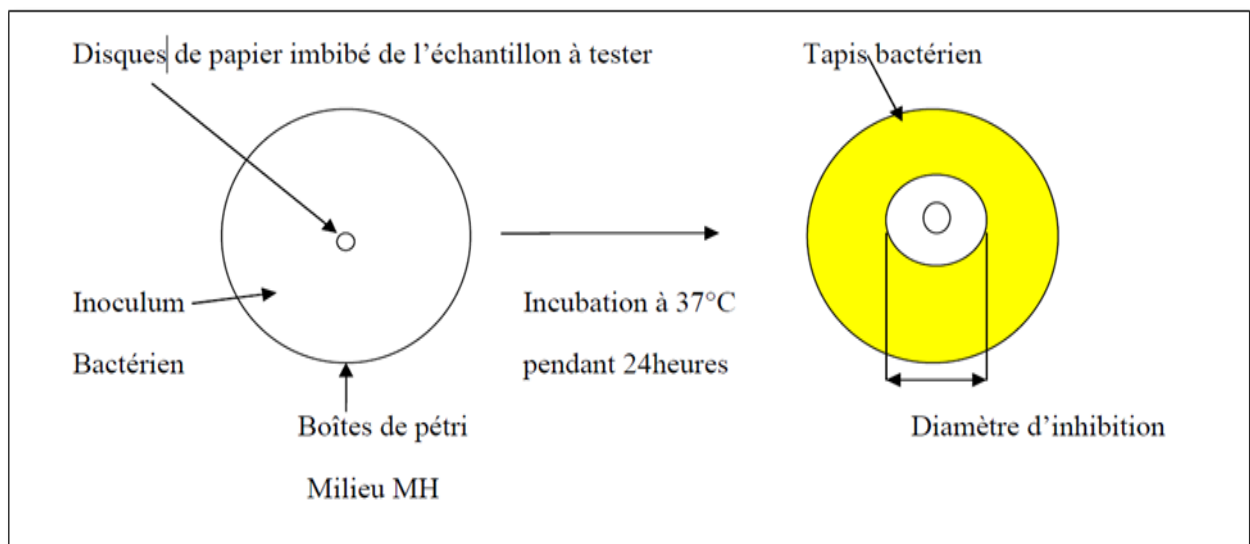


Figure 18:Principe de l'antibiogramme (CLSI, 2016). Haddouche

Matériels et méthodes

2.3.2 Protocole expérimental

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Muller Hinton (MH) en surfusion (45°C) dans des boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte. Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse. Préparer une suspension bactérienne de 10^6 UFC/ml à partir d'une culture jeune de 18 heures.

Tromper l'écouvillon dans la suspension bactérienne puis ensemercer en surface les boîtes coulées déjà par MH. L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose de haut en bas, en stries serrées en répétant l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose (**Courvalin et Lecreq, 2012**).



Photos H : Ensemencement à l'aide d'un écouvillon. **(Photos originales)**



Photo I : Boîte pétri contient une souche de *Staphylococcus aureus*. **(Photo originale)**



Photo J : Boîte pétri contient une souche de *Pseudomonas aeruginosa*, **(Photo originale)**

Matériels et méthodes

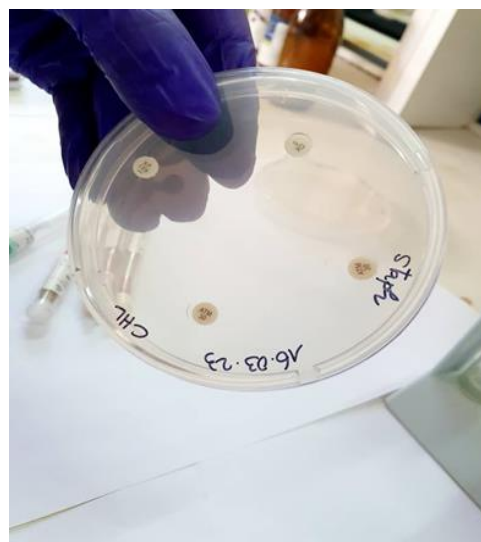
2.3.3 Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, déposer des disques d'antibiotiques stériles (bêtalactamines (oxacilline 5 mcg, aztreonam 30 mcg et amoxicilline 30 mcg) et macrolide (spiramycine 100 mcg) sur la gélose dans chaque boîte qui contient une souche bactérienne (Quatre disque par boîte). Appuyant légèrement, pour assurer un contact uniforme avec le milieu. En les espaçant suffisamment pour éviter les chevauchements.

Les boîtes de pétri sont ensuite laissées sur paillasse pendant 30mn et mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.



Photos K : La Mise en place des disques d'antibiotiques dans les boîtes pétries (**Photos originales**)



Photos L : On a laissé les boîtes de pétris sur paillasse pendant 30mn (**Photos originales**)

Matériels et méthodes



Photo M : On a mis les boites pétries dans une étuve à 37°C pendant 24h (**Photo originale**).

Après écoulement du temps nécessaire, on a récupéré les boites pétris et on commence la lecture de l'antibiogramme avec une règle spécifique et en mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque pastille d'antibiotique, ensuite on évalue leurs effets bactéricide et bactériostatique d'après leur concentration minimale inhibitrice (CMI).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un enjeu de santé publique majeur. Elle est en augmentation depuis plusieurs décennies, engendrant des difficultés à traiter les patients. Elle entraîne une augmentation de la durée des soins et de la morbidité associée aux infections et peut remettre en cause le pronostic vital. De nombreux travaux s'intéressent à la résistance aux antibiotiques, mais peu se basent sur des données de vie réelles.

Notre choix s'est porté sur deux micro-organismes à Gram différents, respectivement le *P. aeruginosa* (Gram négatif) et *S.aureus* (Gram positif), en raison de leur très large implication dans les phénomènes de contamination et d'infection rencontrés dans le domaine Médical.

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats obtenus dans notre travail relatif aux paramètres mesurés.

3. Lecture des résultats

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes **CASFM. (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)**.

On note si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante en fonction de la taille du diamètre d'inhibition autour du disque d'antibiotique (**Courvalin et Leclercq, 2012**).

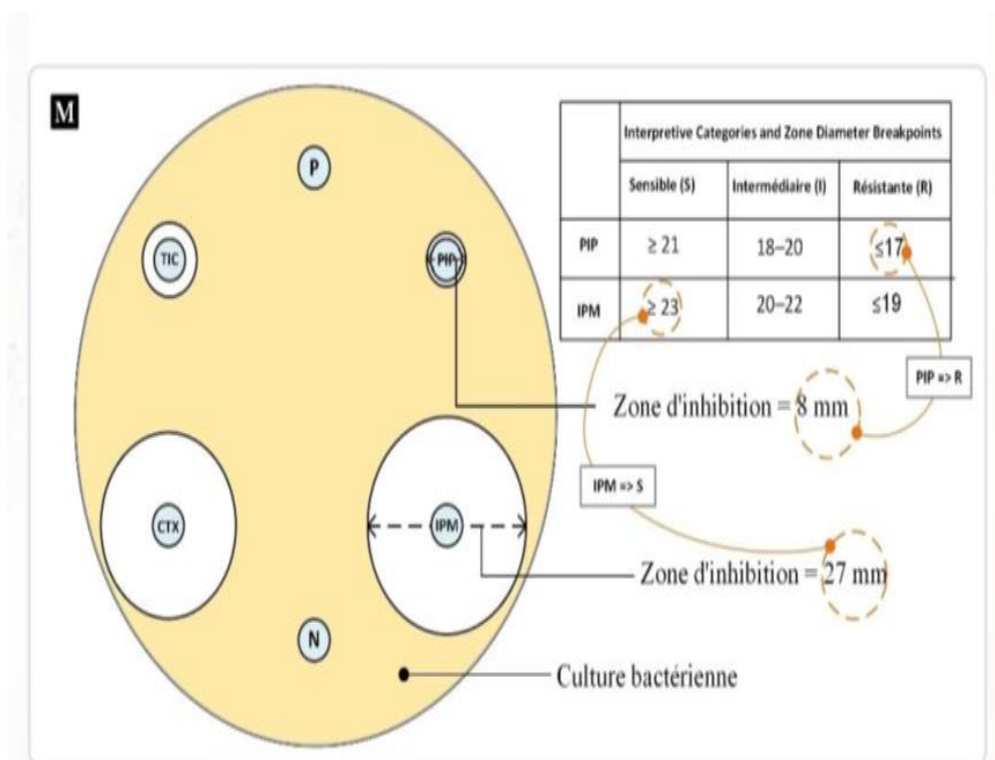


Figure 19:Lecture des résultats d'antibiogramme (microbiologie-clinique).

Résultats et discussion

3.1. Résultats

Après 24 heures d'incubation dans les meilleures conditions (température 37°C, humidité 70%).

3.1.1 Pour la bactérie *Staphylococcus aureus*

Le tableau ci-après présente les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Staphylococcus aureus*

Tableau07 : Résultat de l'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotique	Ox	AMX	AZT	SP
Diamètre (mm)	30	4	2	34
Catégorie clinique	R	S	S	R

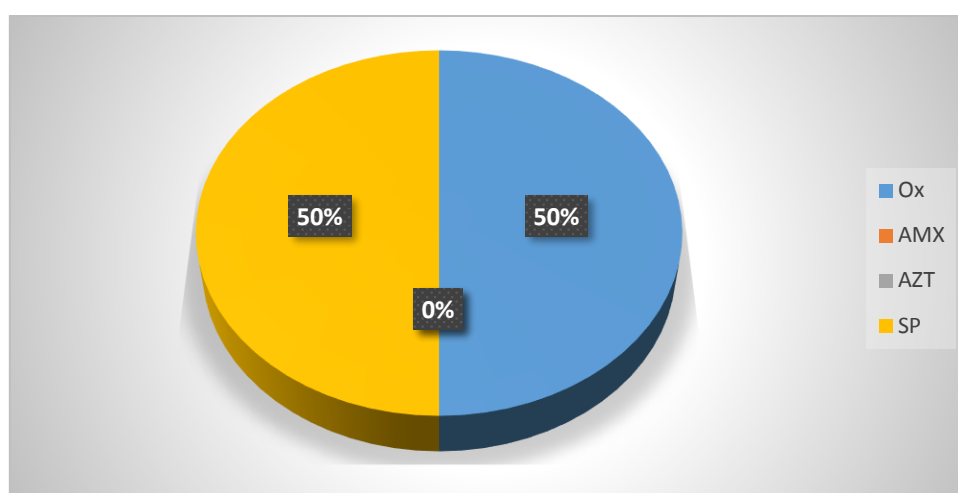
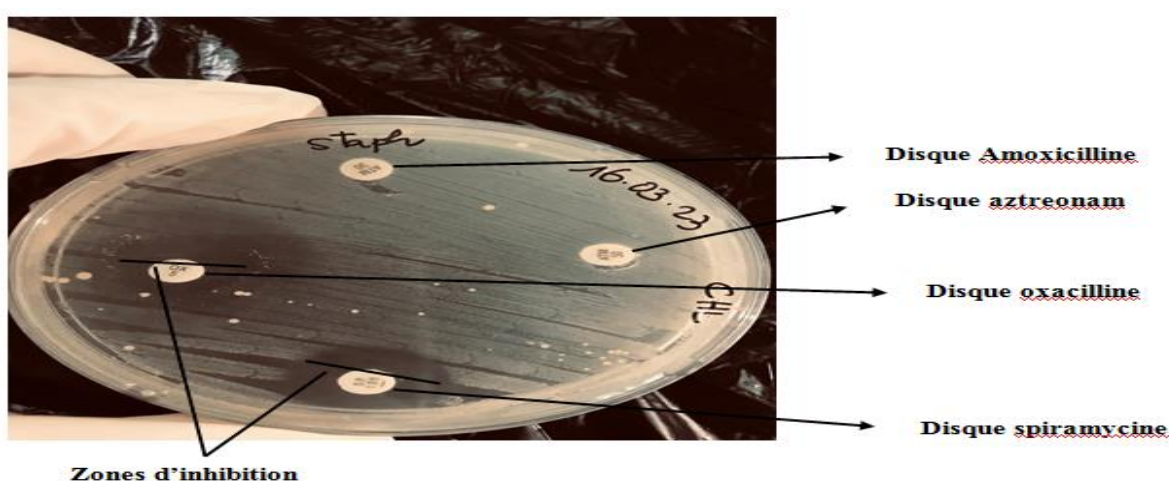


Figure20 : Taux de résistance de *Staphylococcus aureus*



Photos N : Lecture des ATBG en utilisant quatre disques d'antibiotiques différents (Disque Aztreonam, Disque Amoxicilline, Disque Oxacilline, Disque Spiramycine) sur *Staphylococcus aureus* (photo originale)

Résultats et discussion

On déduit que la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* identifiée est résistante à 50 % aux antibiotiques testés (**Figure 20**) tels qu'Oxacilline et Spiramycine avec une zone d'inhibition supérieure à 30 mm, alors qu'elle est sensible à 50% pour les autres antibiotiques Aztreonam et Amoxicilline avec une zone d'inhibition inférieure à 10 mm. (**Photos N**)

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Thati et al., 2010**) qui ont mis en évidence une augmentation de la taille des zones d'inhibition en présence des ATB, la taille est différente d'un ATB à un autre des ATB de la famille des B-Lactamines, des céphalosporines, des macrolides...etc.

S. aureus est un des agents responsables d'infections nosocomiales, les conséquences sont sévères du fait de leur résistance croissante aux antibiotiques. C'est essentiellement le portage nasal de cette bactérie qui en est responsable. Les infections à staphylocoques sont ubiquitaires et peuvent se présenter sous forme d'infections communautaires ou nosocomiales.

Selon (**Felten et Casin, 2003**) la détection de la résistance des *staphylocoques* est très hétérogènes à la méticilline est parfois impossible par les tests à l'oxacilline.

La totalité des souches *S. aureus* isolés sont résistantes à l'oxacilline et à la pénicilline G (100%). Selon plusieurs auteurs cette résistance repose deux grands types de mécanismes qui sont identiques pour les *S. aureus* et pour les *Staphylococcus* à coagulase négative : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique (pénicillinase) et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP2a (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

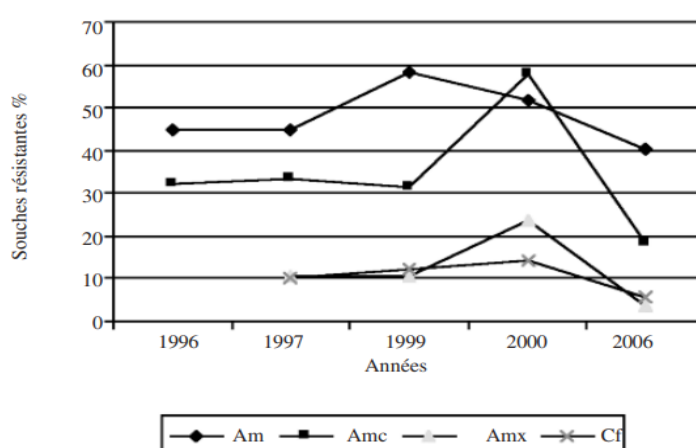


Figure 21 : Pourcentage de résistance enregistré avec les bêta-lactamines au CMSC de 1996 à 2006. Am : ampicilline, Amc : amoxicilline, Amx : amoxicilline /acide clavulanique, Cf : céfazoline.

Résultats et discussion

Selon **Karou SD1,3,4, Nadembega MCW** L'amoxicilline par exemple est l'ATB de 1^{er} ligne pour le traitement des infections respiratoires aiguës (IRA) de l'enfant, notamment de moins de 5 ans. Elle n'est plus prescrite pour les infections urinaires, où elle a été remplacée par la ciprofloxacine.

La résistance aux macrolides est de 69,56%, 52,17% (érythromicine, spiramicine), ce taux de résistance à l'érythromicine correspond à d'autres études de Allioua en 2010 et de Aouati en 2009 qui ont trouvé des pourcentages de 64,5% et 42,5% respectivement (**Figure 22**).

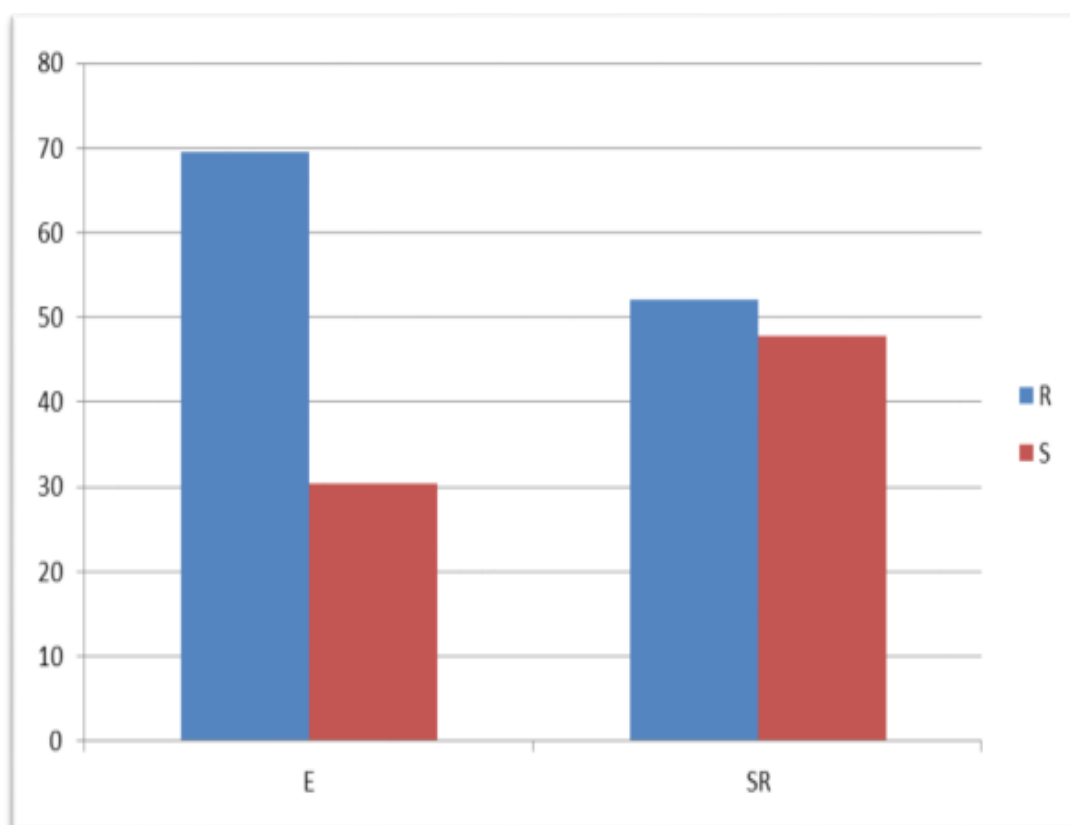


Figure 22 : La résistance et la sensibilité des souches *S. aureus* aux macrolides

Staphylococcus aureus est généralement sensible à l'aztreonam : L'aztreonam est une bêta-lactamine spécifiquement active contre certaines bactéries à Gram négatif, mais inactive contre les bactéries à Gram positif telles que Staphylococcus aureus. Par conséquent, Staphylococcus aureus est généralement sensible à l'aztreonam (**Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1982**)

Résultats et discussion

3.1.2 Pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau ci-après présente les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau08 : Résultat de l'antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotique	Ox	AMX	AZT	SP
Diamètre (mm)	1	2	00	1
Catégorie clinique	R	R	R	R

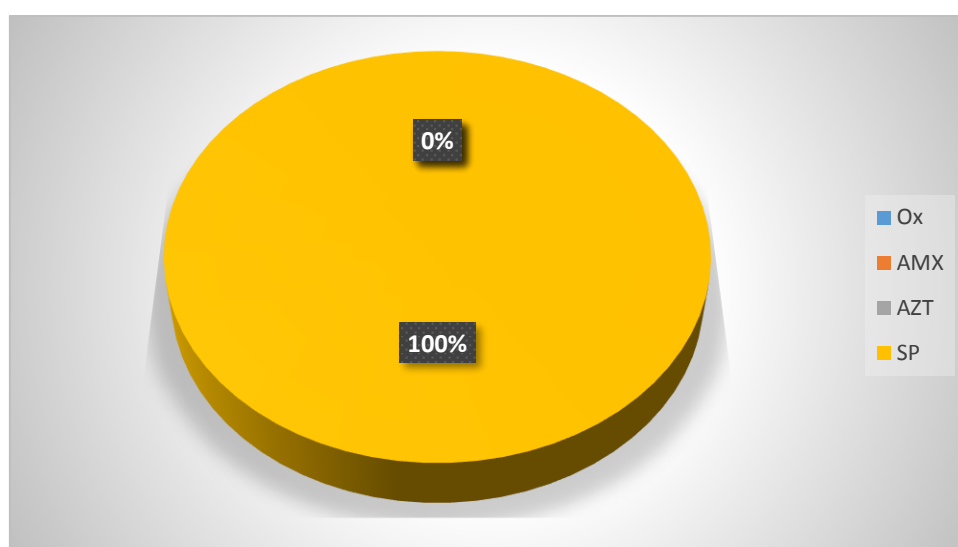


Figure23 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

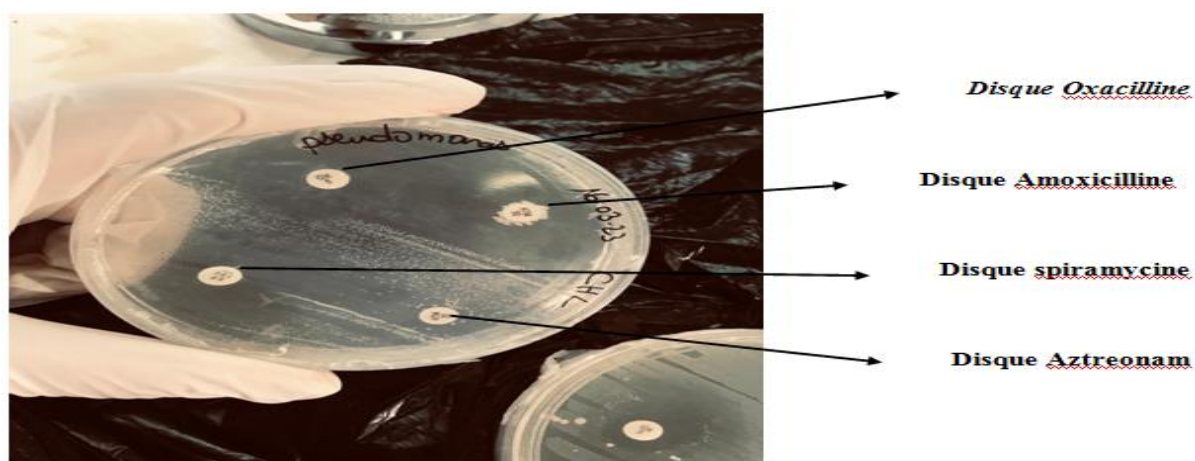


Photo O : Lecture des ATBG en utilisant quatre disques d'antibiotiques différents (Disque Aztreonam, Disque Amoxicilline, Disque Oxacilline, Disque Spiramycine) sur *Pseudomonas aeruginosa* (Photo originale).

Résultats et discussion

On déduit que la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* identifiée est résistante à 100 % aux antibiotiques testés (**Figure 23**) Oxacilline et Spiramycine Aztreonam et Amoxicilline Avec une zone d'inhibition inférieure à 10 mm, (**Photos O**).

La résistance du *Pseudomonas aeruginosa* occupe une position centrale dans la problématique actuelle des infections urinaires. En effet Cette bactérie possède une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des B-lactamines hydrophiles cette résistance naturelle résulte le plus souvent de l'intervention d'autres mécanismes, comme la production d'une céphalosporinase chromosomique et l'existence d'un système d'efflux. (**Carpentier et al.,2003**).

Pseudomonas aeruginosa n'est généralement pas résistante à l'aztreonam, qui est une bêta-lactamine spécifiquement active contre cette bactérie. L'aztreonam est souvent utilisé pour traiter les infections causées par *Pseudomonas aeruginosa*, notamment chez les patients présentant une sensibilité réduite aux autres bêta-lactamines (**Clinical Microbiology Reviews, 2004**)

Cependant, il est vrai que *Pseudomonas aeruginosa* peut développer une résistance aux autres antibiotiques bêta-lactamines tels que l'amoxicilline et l'oxacilline. Ces bactéries peuvent produire des enzymes appelées bêta-lactamases qui inactivent ces antibiotiques (**UpToDate, consulté en septembre 2021**)

Quant aux macrolides, la spiramycine n'est généralement pas utilisée pour traiter les infections causées par *Pseudomonas aeruginosa*, car cette bactérie présente une résistance intrinsèque aux macrolides tels que l'érythromycine et l'azithromycine. Les macrolides sont peu actifs contre *Pseudomonas aeruginosa* en raison de l'efflux actif de ces antibiotiques hors de la cellule bactérienne (**Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003**)

La multirésistance de cette bactérie constitue un grand problème thérapeutique, ce qui fait que le traitement avec des antibiotiques est une guerre difficile à gagner. Par la capacité intrinsèque ou acquise des mécanismes de résistance aux antibiotiques, cette capacité due à une grande régulation génomique des gènes de résistance par la surexpression et des mutations inactivatrices ou par l'acquisition des gènes productrices des bêta-lactamase et d'enzymes modifiant les aminosides. Malheureusement, cette régulation génomique permet à *P.aeruginosa* d'être une bactérie multirésistante (panrésistante) (**Bonomo et Szabo, 2006**).

Le tableau ci-après présente les concentrations critiques et diamètres critiques pour les *Pseudomonas* d'après le CASFM 2019

Résultats et discussion

Tableau 09 : Concentrations critiques et diamètres critiques pour les *Pseudomonas* d'après le CASFM 2019

Antibiotiques	CMI (mg/L)		Charge du disque	Diamètres d'inhibition (mm)	
	Cible	Limites acceptables		Cible	Limites acceptables
Amikacine	2	1-4	30	22	18-26
Aztréonam	4	2-8	30	26	23-29
Céfépime	1-2	0,5-4	30	28	25-31
Ceftazidime	2	1-4	10	24	21-27
Ceftazidime-avibactam ^{3,5}	1-2	0,5-4	10-4	24	21-27
Ceftolozane-tazobactam ^{1,3,4}	0,5	0,25-1	30/10	28	25-31
Ciprofloxacine	0,5	0,25-1	5	29	25-33
Colistine ⁶	1-2	0,5-4	-	-	-
Doripénème	0,25	0,125-0,5	10	31-32	28-35
Fosfomycine	4	2-8	-	-	-
Gentamicine	1	0,5-2	10	20	17-23
Imipénème	2	1-4	10	24	20-28
Lévofloxacine	1-2	0,5-4	5	22-23	19-26
Méropénème	0,5	0,25-1	10	30	27-33
Netilmicine	2	0,5-8	10	18	15-21
Pipéracilline	2-4	1-8	-	-	-
Pipéracilline-tazobactam ^{1,3,4}	2-4	1-8	30/6	26	23-29
Ticarcilline	16	8-32	-	-	-
Ticarcilline-acide clavulanique ^{2,4}	16	8-32	75/10	24	20-28
Tobramycine	0,5	0,25-1	10	23	20-26

¹ Pour la mesure de la CMI, la concentration du tazobactam est de 4 mg/L.

² Pour la mesure de la CMI, la concentration de l'acide clavulanique est de 2 mg/L.

³ *K pneumoniae* ATCC 700603 peut être utilisé pour le contrôle de l'inhibiteur.

⁴ *E. coli* ATCC 35218 (producteur de bêta-lactamase TEM-1) peut être utilisé pour le contrôle de l'inhibiteur.

⁵ Pour la mesure de la CMI, la concentration d'avibactam est de 4 mg/L.

⁶ La méthode de référence pour la mesure de la CMI est la méthode de dilution en agar. Réaliser le contrôle de qualité avec une souche sensible (*E. coli* ATCC 25922 ou *P. aeruginosa* ATCC 27853) et la souche résistante *E. coli* NCTC 13846 (*mcr-1* positive).

Résultats et discussion

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique (**Guinoiseau, 2010**). Les principaux mécanismes de résistance sont détaillé dans le tableau ci -dessous.

Tableau 10 : Principaux mécanismes de résistance (A. Decoster ,2016)

Classes	Mécanisme	Espèce	Support
Bétalactamines	Bétalactamases	<i>Staphylocoque</i> Bacilles Gram -	Plasmide chromosome
	Modification des PLP	<i>Staphylocoques</i> <i>Entérocoques</i>	Plasmide Chromosome
		<i>Pneumocoques</i>	Transformation
		<i>Gonocoques</i> <i>Haemophilus</i> <i>Pseudomonas</i>	Multiples
Aminosides	Imperméabilité	<i>Pseudomonas</i>	Plasmide et chromosome
	Enzymes APH, ANT,AAC	Coques à Gram + Bacilles à Gram -	Plasmide
MLS	Modification ribosomes	Coques à Gram +	Plasmide et chromosome
	Imperméabilité	<i>Haemophilus</i>	Plasmide et chromosome
	Inactivation enzymatique	/	Plasmide
Quinolones	Modification de la topo 2 Imperméabilité	Bacilles à Gram -	Plasmide et chromosome
Tétracyclines	Elimination	/	Plasmide
	Imperméabilité	/	Plasmide et chromosome
Phénicoles	Inactivation enzymatique	/	Plasmide
Polypeptides	Imperméabilité	Bacilles à Gram -	Plasmide et chromosome
Rifampicine	Transcriptase modifiée	/	Plasmide et chromosome
Glycopeptides	/	<i>Entérocoques</i>	Plasmide

Conclusion générale

Conclusion générale

La résistance des bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques macrolides et aux beta lactamine est un problème croissant dans le domaine de la santé.

Les macrolides et les beta lactamines sont des classes d'antibiotiques couramment utilisés pour traiter les infections bactériennes, mais la résistance à ces médicaments compromettent leur efficacité.

Dans cette étude nous avons déterminé la résistance bactérienne, en particulier chez les bactéries *Staphylococcus aureus* Gram + et *Pseudomonas aeruginosa* Gram - aux antibiotiques appartenant aux familles des bêtalactamines et des macrolides, en utilisant des tests d'antibiogramme.

Les résultats obtenus ont montré que *S. aureus* présente une sensibilité à l'oxacilline et à la spiramycine, ce qui signifie que ces antibiotiques sont efficaces pour inhiber la croissance de cette bactérie. Cependant, *S. aureus* a montré une résistance à l'aztreonam et à l'amoxicilline, indiquant que ces médicaments ne sont pas efficaces pour traiter les infections causées par cette souche de bactérie.

En ce qui concerne *P. aeruginosa*, les résultats ont révélé une résistance à tous les antibiotiques testés, y compris les bêta-lactamines (oxacilline, aztreonam, amoxicilline) et macrolide (spiramycine). Cette résistance généralisée souligne la difficulté de traiter les infections causées par *P. aeruginosa*, car les antibiotiques couramment utilisés ne sont pas efficaces.

Ces conclusions mettent en évidence la présence de résistances aux antibiotiques parmi les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* étudiées. Cette résistance peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que l'utilisation abusive et inappropriée d'antibiotiques, la transmission de gènes de résistance entre les bactéries et la capacité intrinsèque de ces bactéries à développer des mécanismes de résistance.

Il est essentiel de prendre des mesures pour lutter contre la résistance aux antibiotiques, telles que la promotion d'une utilisation rationnelle des médicaments, le développement de nouveaux antibiotiques et l'amélioration des pratiques d'hygiène pour prévenir les infections. La surveillance continue de la résistance aux antibiotiques et la recherche sur de nouvelles stratégies thérapeutiques sont nécessaires pour faire face à ce problème croissant de santé publique.

Les Références bibliographiques

Les Références bibliographiques :

A

Accarias ; (2014). Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. Ecole doctorale : SEVAB, Sciences Economiques, Vétérinaires, Agronomiques, Bioingénieries. Université de Toulouse, France. 212p

A Decoster ;(25 Sep 2016), Cours de Microbiologie. Résistance aux antibiotiques [En ligne]

Alibayov , Baba-Moussa et al. (2014). Staphylococcus aureus mobile geneticelements. Molecular biology reports, 41(8), 5005–5018.

Angandza ;(2012). Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* résistant à la méticilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar (Sénégal). Diplôme d'état. Ecole inter – états des sciences et médecine vétérinaires. Université cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal. 104p

Araos, R., & D'Agata, E. (2019). Pseudomonas aeruginosa and other Pseudomonas species. Mandell, Douglas, & Bennett's Principles & Practice of Infectious Diseases. Pp 2687.

Ariane B. (2017). Les infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en 2017. Thèse pour obtenir un diplôme d'état de docteur : Pharmacie. Bretagne : Université de Rennes 1. p14, 34,57.

B

Barir O. & Ghilani M. (2011). Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de Pseudomonas aeruginosa d'origine Hospitalière. Mémoire de master

Basli et al. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : Origanum glandulosum Desf. Phytothérapie, 10(1), 2-9.

Becker et al., (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species. Journal of Clinical Microbiology, 42(11), 4988-4995. doi: 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004

Bérdy, J. (2012). Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading. The Journal of antibiotics, 65(8), 385-395.

Bhattacharjee, M. K., (2016). Introduction to antibiotics. Chemistry of Antibiotics and Related Drugs, 1-25.

Bonomo RA, Szabo D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in Acinetobacter species and Pseudomonas aeruginosa. Clin Infect Dis 2006 ; 43 (suppl 2) : S49-56.

Bonnet et al., (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations, 19, 133-142.

Bouguenoun, W. 2017. Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat d'état, université Badj Mokhtar-Annaba. Pp 22 (218)

Bryskier, A., & Bergogne-Berezin, E. (2005). Macrolides. *Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals*, 475-526.

Burns, A., et al., *A longitudinal study of Staphylococcus aureus colonization in pigs in Ireland.* *Veterinary Microbiology*, 2014. **174**(3): p. 504-513.

Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology" édité par Forbes et al. (2013) et "Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections" édité par Borriello et al.2010).

Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology édité par Forbes et al. 2013et Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections édité par Borriello et al. 2010

C

Cady A. (2006). Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Étude Université de Nantes faculté de pharmacie

Carpentier et al., (2003). Infections à bacille pyocyanique. *Encycl Med Chir (Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses*, 8-025-B-50, 2003, 23p.

Cavallo et al. (2004). Bêtalactamines. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1(3), 129–202.

Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States, 2013.

Centers for Disease Control and Prevention. (2019). *Pseudomonas aeruginosa in Healthcare Settings.*

Chua et al. (2014). Population genetics and the evolution of virulence in *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 21, 554–562.

Corne P. (2004) *Staphylococcus aureus dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique.* Thèse., Montpellier 1

COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

CASFM. (Comité de l'Antibiogramme de la Société Français de Microbiologie).

Courvalin et Leclreq, 2012.

CLSI, 2016. Haddouche

D

Delarras, C. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, Franc*

Dougnon, V. (2018). Recherche de la Staphylocoagulase libre à partir du plasma d'animaux tropicaux : influence du type d'anticoagulant, de la température et de la durée de conservation
Investigation of free Staphylocoagulase from tropical animal plasma : influence of anticoagulant type, temperature and preservation's length. 34pp

Duchesne R. (2017). Rôle du facteur sigma a fonction extracytoplasmique SigX dans l'adaptation : la formation de biofilm et la réponse à des stress de l'enveloppe chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Université de Rouen Normandine. P22

Durand, G. (2009). Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1). Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, France. 209 p

E

EVEILLARD M. (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline à l'admission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'Angers

Eveillard, M. (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'Angers. Université d'Angers. Français, p160

Eyquem A., Alouf J., Montagnier L. (2005). Traité de microbiologie. Clinique : quatrième mise à jour et compléments. P238
Léon L M ; Michel V. *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Paris : Flammarion édition ; 1990. p. 567-7

EUZEBY J. P., L'antibiogramme. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de Toulouse LE 28 SEPTEMBRE 2010)

EUZEBY J. P., L'antibiogramme. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de Toulouse. le 28 septembre 2010.

F

F. Van Bambeke, J. Verhaegen, P.M. Tulkens. (2001). Érythromycine, autres macrolides et kétolides : usages cliniques actuels et perspectives. La Lettre de l'Infectiologue - Tome XVI - n° 10.320-326.

G

Gaynor, M., & Mankin, A. S. (2003). Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(9), 949-960.

Gordon R.J. and F.D. Lowy, Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clinical Infectious Diseases, 2008. 46(Supplement 5) : p. S350-S359

H

Hennekinne JA. (2009). Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive, thèse de Doctorat. Université Agro ParisTech, France. p: 16-17.

Hiramatsu et al., (2014). Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(10), 593-601.

Hu et al., (2013). Characterization and comparative analysis of a second thermonuclease from *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research*, 168(3), 174-182

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.

I

Institut de pasteur. (2014). Antibiotiques : quand les bactéries font de la résistance. P14
Resistance_aux_antibiotiques-institut-pasteur. PdfConsultez le 02/04/2023

Institut national de recherche sur le génome humain. (2023).

Institut des normes cliniques et de laboratoire ; 2021.

J

J.F. Guillot. Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1989, 20 (1), p3

Juda, M., Chudzik-Rzad, B., & Malm, A. (2016). The prevalence of genotypes that determine resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins B compared with spiramycin susceptibility among erythromycin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111, 155-160.

Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. 2009

Jorgensen et al., 2015

K

Kanoh, S., & Rubin, B. K. (2010). Mechanisms of action and clinical application of macrolides as immunomodulatory medications. *Clinical microbiology reviews*, 23(3), 590-615.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33(3), 300–305.

Khalilzadeh P. Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III) ; 2009.

Kirmusaoğlu, S., Gareayaghi, N., & S. Kocazeybek, B. (2019). Introductory Chapter: The Action Mechanisms of Antibiotics and Antibiotic Resistance. *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*.

L

Lambert, P. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the royal society of medicine*, 95(Suppl 41), 22.

Lam et al., (2011). Genetic and Functional Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide. *Frontiers in Microbiology*, 2. doi:10.3389/fmicb.2011.00118

Lázár et al., (2014). Genome-wide analysis captures the determinants of the antibiotic cross-resistance interaction network. *Nature communications*, 5(1), 4352.

Lima et al., (2020). B-lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 112829.

Liu et al., (2017). Engineering of an Lrp family regulator SACE_Lrp improves erythromycin production in *Saccharopolyspora erythroa*. *Metabolic engineering*, 39, 29-37.

Li, X. Z., Plésiat, P., & Nikaido, H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 28(2), 337-418.

L'organisation mondiale de la Santé (OMS), les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ou des sociétés savantes en microbiologie et en infectiologie).

Leclercq, R., & Courvalin, P. (2011).

M

Martinez, J. L. (2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discovery Today : Technologies*, 11, 33-39.

Mderreg B. 2015. Infections à *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation : Evolution de la résistance aux antibiotiques à travers le temps. Thèse de doctorat d'état, université MOHAMMED V, Rabat, 204 p

Mehdi. S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat. THESE. [En ligne]. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

Mehdi. S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat. THESE. [En ligne]. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : Université Mohammed V faculté De Médecine Et De Pharmacie, 48-51p.

Micek et al., (2015). *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of pneumonia classification. *infection control & hospital epidemiology*, 36(10), 1190-1197

Miller, L. S., & Cho, J. S. (2011). Immunity against *Staphylococcus aureus* cutaneous infections. *Nature Reviews Immunology*, 11(8), 505-518.

Missiakas, D. M., & Schneewind, O. (2013). Growth and laboratory maintenance of *Staphylococcus aureus*. *Current protocols in microbiology*, Chapter 9, Unit-9C.1.

Moellering Jr, R. C., & Ferraro, M. J. (2012). Introduction: solving the clinical problem of vancomycin resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 54(suppl_3), S201-S202. NIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

Mohr, K. I. (2016). History of antibiotics research. How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives, 237-272

Moon *et al.*, (2015). Phage-mediated horizontal transfer of a *Staphylococcus aureus* virulence-associated genomic island. Scientific reports, Pp5, 9784.

Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Pati Pandey, R., & Samuel Raj, V. (2021). Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*. IntechOpen.

MAURY M., 1987. In : Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur Microbiologie Immunologie, Paris, 3e édition, Diagnostic Pasteur, pp.69, 124 – 127, 401.)

Microbiologie-clinique

N

National Center for Biotechnology Information. (2023) *Pseudomonas aeruginosa*

Nelson, M. L., & Levy, S. B. (2011). The history of the tetracyclines. Annals of the New York Academy of Sciences, 1241(1), 17-32.

Nicolaou, K. C. (1977). Synthesis of macrolides. Tetrahedron, 33(7), 683-710

Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. Annual review of biochemistry, 78, 119-146.

O

Omura, S. (Ed.). (2002). Macrolide antibiotics: chemistry, biology, and practice. Academic press.

OMS,1994. Bactériologie clinique Genève.

OMS,2014.

P

Palleroni N. (1984). Manual of Systematic Bacteriology.USA. P141–171

Pang *et al.*, (2018). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnology Advances.3-6

Pharmacomedicale.org. (2023). MACROLIDES

Porrero *et al.*, (2014). Carriage of *Staphylococcus aureus* by free-living wild animals in Spain. Applied and environmental microbiology, 80(16), 4865–4870.

Practical Handbook of Microbiology par Emanuel Goldman et Lorrence H. Green 2015
et **Manual of Clinical Microbiology ed. Jorgensen et al 2015**

"Practical Handbook of Microbiology" par Emanuel Goldman et Lorrence H. Green (2015) et **"Manual of Clinical Microbiology" édité par Jorgensen et al. (2015).**

"Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing" publié par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guidelines" publié par l'EUCAST.

R

Ravelli, Q. (2014). Résistances aux antibiotiques : la fin du scientisme de l'innovation. Bulletin d'histoire et d'épistémologie des sciences de la vie, 21(2), 149-161.

Robert G. (2000) Ulrich, Evolving superantigens of *Staphylococcus aureus*, FEMS Immunology & Medical Microbiology, Volume 27, Issue 1, Pages 1–7,

Ryder, C., Byrd, M., & Wozniak, D. J. (2007). Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. Current opinion in microbiology, 10(6), 644-648.

S

Schneider et al., (2012). Streptomycin-induced expression in *Bacillus subtilis* of YtnP, a lactonase-homologous protein that inhibits development and streptomycin production in *Streptomyces griseus*. Applied and environmental microbiology, 78(2), 599-603.

Sefraoui I. 2015. Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 94

Shittu, A., Lin, J. and Morrison, D. (2007). Molecular identification and characterization of mannitol-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Diagn Microbiol Infect Dis. 57(1) P : 5-93

Souley L., Moustafa F.S. (2002). Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB à l'hôpital du point G. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. Université de Bamako. P95

Sante médecine. Comment ça marche.net

Spellberg, B., & Lipsitch, M. (2017). The future of antibiotics and resistance. The New England Journal of Medicine, 376(13), 1248-1260.

T

Thati et al., (2010): nanostructured zinc oxide enhances the activity of antibiotics against *Staphylococcus aureus*. Biosci Tech.p:64 .

Tamaoki, J. (2004). The effects of macrolides on inflammatory cells. Chest, 125(2), 41S-51S.

Todar, K. (2011). Bacterial resistance to antibiotics (page 3). Todar's online textbook of bacteriology, 4.

V

Varaprasad et al., 2020. Antibiotic Nanomaterials. In Antibiotic Materials in Healthcare, pp. 1–10. Elsevier.

Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. Pharmacy and therapeutics, 40(4), 277.

Veysièrè, Anaïs, Jennifer. (2019). La Résistance Aux Antibiotiques Des Bactéries Les Plus Communément Rencontrées Dans Les Infections Communautaires. Université de bordeaux. Pp 39 (106)

Vitko, N. P., & Richardson, A. R. (2013). Laboratory Maintenance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current protocols in microbiology*, 28(1), 9C-2

W

Wilke, Lovering, A. L., & Strynadka, N. C. (2005). β -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current opinion in microbiology*, 8(5), 525-533.

Wistrand-Yuen, et al. (2018). Evolution of high-level resistance during low-level antibiotic exposure. *Nature Communications*, 9(1), pp. 1–12.

World Health Organization (2019). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.

WOOTON et al. (2004). Intervention to reduce the incidence of methicilline-resistant *Staphylococcus aureus* skin infection in a correctional facility in Georgia. *Infect control hospEpidemiol.* 25: 402-407

Worthington Melander et al. (2013). Overcoming resistance to β -lactam antibiotics. *The Journal of organic chemistry*, 78(9), 4207–4213.

Wright et al. (2012). Antibiotics: a new hope. *Chemistry&biology*, 19(1), 3-10.

Y

Yvon Michel-Briand (2012). Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques. L'Harmattan. p12.

Sitographie :

<http://fr.wikipedia.org/wiki/>

<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2752445-antibiogramme-definition-schema-interpretation-resultat-prelevement-sensible>).

Santé médecine. Comment ça marche.net

<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/macrolides> Consultez le 10/04/2023

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Pseudomonas%20aeruginosa\[Organism\]&cmd=DetailsSearch](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Pseudomonas%20aeruginosa[Organism]&cmd=DetailsSearch)

<https://www.intechopen.com/chapters/65914>

<https://www.genome.gov/geneticsglossary/Bacteria#:~:text=Bacteria%20are%20small%20single%2Dcelled,bacterial%20cells%20than%20human%20cells>. Consulter en 05/03/2023 à 11 :25

https://www.pasteur.fr/sites/default/files/rubrique_nous_soutenir/lip/lip85-

<https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html#:~:text=Pseudomonas%20is%20a%20type%20of,in%20soil%20and%20in%20water>. Consulter le 26/02/2023 World Health Organization. (2021). Antimicrobial resistance. Pseudomonas aeruginosa.

[https://www.who.int/campaigns/world-antibiotic-awareness-European Centre for Disease Prevention and Control](https://www.who.int/campaigns/world-antibiotic-awareness-European-Centre-for-Disease-Prevention-and-Control). (2020). Antibiotic resistance. Pseudomonas aeruginosa.

<https://ecdc.europa.eu/en/antibiotic-> MedlinePlus. (2021). Pseudomonas infection.

<https://medlineplus.gov/pseudomonasinfections.html>American Lung Association. (2021). Pseudomonas aeruginosa.

<https://www.lung.org/lung-health-and-diseases/lung-disease-lookup/pseudomonas-aeruginosa> World Health Organization. (2021). Antimicrobial resistance. Staphylococcus aureus.

<https://www.who.int/campaigns/world-antibiotic-awareness->

<http://anne.decoستر.free.fr/atb/resab.htm>