



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE  
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ Abbès LAGHROUR DE KHENCHELA  
FACULTÉ SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de la biologie

N° de série :.....

**Mémoire de fin d'études**

*Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)*

**Spécialité :** *biologie*

**Option :** *biochimie appliquée*

*La Résistance des Bactéries Escherichia Coli et  
Staphylocoque aux antibiotiques macrolides*

**Réalisé par :** *Sabeg Zina*

**Dirigé par :** *Dr.Takouachet Radhwane*

**Membres de jury :**

**Président :** *Sedrati Abd Nour*

**Examineur :** *Badis Zakaria*

*Présenté 2020 /2021*

## Remerciements

*« Louange à Allah qui nous a guidés à ceci.  
Nous n'aurions pas été guidés, si Allah ne nous avait pas guidés »*

**[Sourate 7. Al Araf verset 43]**

*Au terme de ce travail, je remercie DIEU ALLAH pour m'avoir donné la volonté et le courage pour terminer ce modeste travail.*

*Je tiens particulièrement à remercier Dr TAKOUACHET RADHOUANE, mon encadreur, d'avoir accepté d'encadrer, de diriger et suivre le travail présenté dans ce mémoire, qu'il trouve ma profonde gratitude pour les encouragements, les précieux conseils, sa sympathie et sa disponibilité qui ont contribué à réaliser ce travail.*

*Merci également pour votre enthousiasme.*

*Nous remercions les membres de jury et*

*Nous remercions tous nos enseignants du département de BIOLOGIE de l'université de  
KHENCHLA*

*Nous remercions tous nos collègues de la spécialité (BIOCHIMIE APPLIQUEE) M2 promo  
2020 /2021.*

*A toutes celles et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce  
modeste travail.*



## **DÉDICACE**

*En ce moment charnière de ma vie,*

*Je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A deux personnes les plus nobles et les plus chères au monde :*

*Mon père (LAKHDHAR) et Ma mère (HEDDA) Qui ont sacrifié les plus belles années  
de leurs vie pour me voir un jour réussie, et m'ont soutenues jusqu'à la fin.*

*A mon cher mari Mehdi Boumaiza et mes enfants Daline, Asslane, Layane.*

*A mes chers frères: Mohammed et Khalil*

*A mes chères Sœurs : Sonia ; Samra et Nassima*

*A toute ma famille et tous mes amis*

*A tous mes collègues de la même spécialité*



**ZINA**

## Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

### Patrie théorique

#### Chapitre 01: Généralités sur les antibiotiques

Introduction ..... 4

I. Généralité sur les antibiotiques : ..... 4

    Définition : ..... 4

    Historique : ..... 5

    Mode d'action des antibiotiques ..... 5

    Action sur la paroi bactérienne : ..... 6

        Action sur la membrane cytoplasmique : ..... 6

        Action sur la réplication de l'ADN : ..... 6

        Action sur la traduction de l'ARN messager : ..... 6

        Action sur le métabolite intermédiaire : ..... 6

    Les familles des ATB : ..... 7

    Résistance aux antibiotiques : ..... 7

    Définition : ..... 7

    Classification des antibiotiques ..... 11

II Antibiotique macrolides: ..... 12

    II.1.Définition : ..... 12

    II.2 Classification des macrolides ..... 14

    Erythromycine et spiramycine ..... 15

    Espèces sensibles : ..... 15

    Espèces modérément sensibles (*in vitro* de sensibilité intermédiaire) : ..... 15

    Espèces résistantes : ..... 15

    Cas d'usage de l'érythromycine et spiramycine: ..... 16

    Attention ..... 17

L' azythromicyne.....	17
Midécamycine : .....	18
La télithromycine.....	18
Indications courantes : .....	20
Indications particulières :.....	20
II.4 : Mode d'action :.....	20
II.5 Mécanisme d'action des macrolides:.....	21
La pénétration à la bactérie : .....	22
Mécanisme d'action intracellulaire : .....	23
II.6 Kétolides :.....	23
II.7 Mécanisme d'action :.....	23
II.7 Conclusion.....	24

## **Chapitre 02: Les bacéries**

Introduction.....	27
I. Leur forme structurelle : .....	28
II. Leur paroi : comparatif Gram + et Gram – : .....	28
Gram + :.....	29
Gram – :.....	29
A/ ESCHERICHIA COLI DÉTAILLÉ :.....	30
A.1.Historique : .....	30
A.2 définition d'Escherichia coli :.....	31
Habitat : .....	32
Caractères moléculaires :.....	35
Les sérotypes d'Escherichia coli : .....	41
A.8. Traitement :.....	42
Traitement curatif:.....	42
Traitement préventif:.....	42
B/les staphylocoques : .....	42
Historique :.....	42
Définition de staphylocoque : .....	42
Staphylococcus aureus : .....	43
Taxonomie: .....	43
Caractères bactériologiques : .....	43
A/. Caractères morphologiques :.....	43

b/. caractères cultureux : .....	44
c/.Caractères physiologiques et biochimiques : .....	45
Traitement : .....	48
Prophylaxie : .....	48

### **Chapitre 03: Les antibiogrammes**

I. Introduction.....	51
II. Techniques des Antibiogramme. ....	51
1. Choix de l'antibiotique.....	52
Résistances naturelles et acquises des bactéries. ....	52
Lecture de l'antibiogramme.....	53
Microorganismes résistants aux antibiotiques.....	54
Enterococcus.....	55
faecalis .....	55
Escherichia coli.....	55
Staphylococcus .....	55
Amikacine.....	55

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre 04: Méthodes et Matériels**

I. Méthode et matériel. ....	62
Conclusion générale .....	74
Référence Bibliographique.....	76

## Liste des figures:

Figure 1: structure d'une bactérie [12].	4
Figure 2: Représentation des principales cibles des antibiotiques..[5].	7
Figure 3: mécanismes de résistance des organismes Gram négatif aux macrolides	9
Figure 4: Résumé des différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques[19].	11
Figure 5: structure générale du noyau macrolide .....[85].	13
Figure 6: macrocyte a 14 et 16 chainons. ....[85].	13
Figure 7: structure de l'érythromycine A .....[87].	14
Figure 8: structure générale du ribosome .....[87].	21
Figure 9: mécanisme d'action des macrolides. ....[91].	22
Figure 10: Structure de la paroi bactérienne [31].	22
Figure 11: Inhibition de la croissance d'une culture de Staphylococcus aureus par les macrolides	25
Figure 12: Structure d'une bactérie	27
Figure 13: représentation des différentes formes bactériennes...[26].	28
Figure 14: Représentation du peptidoglycane de la paroi bactérienne...[27].	29
Figure 15: Comparaison entre la paroi cellulaire d'une bactérie Gram + (à gauche) et d'une bactérie Gram - (à droite)...[29].	30
Figure 16: Schéma d'E.coli.....[30].	32
Figure 17: Cycle de vie d'E. Coli[32].	33
Figure 18: Structure cellulaire de staphylococcus aureus...[40].	43
Figure 19: Aspect de Staphylococcus aureus microscopie électronique X 20000) [41].	44
Figure 20: l'antibiothérapie des infections à staphylocoques...[46].	49
Figure 21: Test de diffusion d'un antibiotique : détermination de l'efficacité des substances antimicrobienne [49].	52
Figure 22: Un antibiogramme ...[52].	55

**Liste des tableaux:**

Tableau 1: récapitulatif des principaux médicaments macrolides commercialisés.....	15
Tableau 2: Caractères biochimiques d'E. Coli[56]. .....	35
Tableau 3: La physiopathologie d'Escherichia coli [63,64]. .....	38
Tableau 4: Facteurs devirulence de Staphylococcus aureus [75].....	45
Tableau 5: Résultats microbiologiques. ....	55
Tableau 6: Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes $\pm$ 1 écart-type calculés 400 tests).....	56

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS :**

ADN : acide désoxyribonucléique.

AIEC : Les E. coli adhérentes invasives.

ANB : Antibiotique.

ANBG : Antibiogramme.

APEC : Escherichia Coli Pathogène Aviaire.

ARN: acide ribonucléique.

ARNm: ARN messager.

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

Crohn : chronique de l'intestin(MiCi)

EAEC : Escherichia Coli EntéroAggrégative.

EHEC : Escherichia Coli EntéroHémorragiques.

EIEC : Escherichia Coli Entéro-Invasives.

EPEC : Escherichia Coli EntéroPathogène.

ETEC : Escherichia coli entérotoxinogène.

HUS : syndrome urémique hémolytique

InPEC : Escherichia Coli Pathogène Intestinal.

IVSE : intraveineuse seringue électrique.

LCR : liquide céphalo-rachidien.

LPS: Lipopolysaccharide

Mes : mise en charge.

NMEC : Escherichia Coli associé à la Méningite Néonatale.

OMA : otite moyenne aigue.

OS : acul sinistre (œil gauche).

PLP : protéines de liaison aux pénicillines.

PLP2a : protéines de liaison aux pénicillines additionnelle.

PO : pression osmotique.

PSDP : pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline.

RAA : rhumatisme articulaire aigu.

S: staphylocoque.

SEPEC : Escherichia Coli associée à la Septicémie.

TIAC : toxi \_ infection alimentaire collective.

TNF: tumor necrosis factor.

UFC: unite formant colonies.

UPEC : Escherichia Coli UroPathogène.

UTI : Infection du Tractus Urinaire



# **Introduction générale**

# Introduction générale

---

## Introduction générale

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste un problème majeur de santé publique, plus particulièrement en milieu hospitalier. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante des antibiotiques et la diffusion épidémique des souches résistantes sont des facteurs principaux conditionnant cette évolution [1].

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances [2]. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant cette évolution [3].

Au terme de six décennies d'utilisation des antibiotiques (antimicrobiens en général), la majorité des bactéries pathogènes pour l'humain et/ou pour l'animal a atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. De telles infections entraînent souvent une augmentation du nombre d'hospitalisations, une augmentation des échecs thérapeutiques et la persistance de pathogènes pharmaco résistants.

Tel que *Staphylococcus aureus* résistant aux macrolides, les bactéries gram négatif sont généralement naturellement résistantes aux macrolides car leurs membrane cellulaire externe est imperméable aux molécules hydrophobes telle que *Escherichia coli* et *Salmonella typhi* [4].

Les macrolides font partie des antibiotiques les plus utilisés pour le traitement des infections causées par ces germes. Bien qu'ils constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que

## Introduction générale

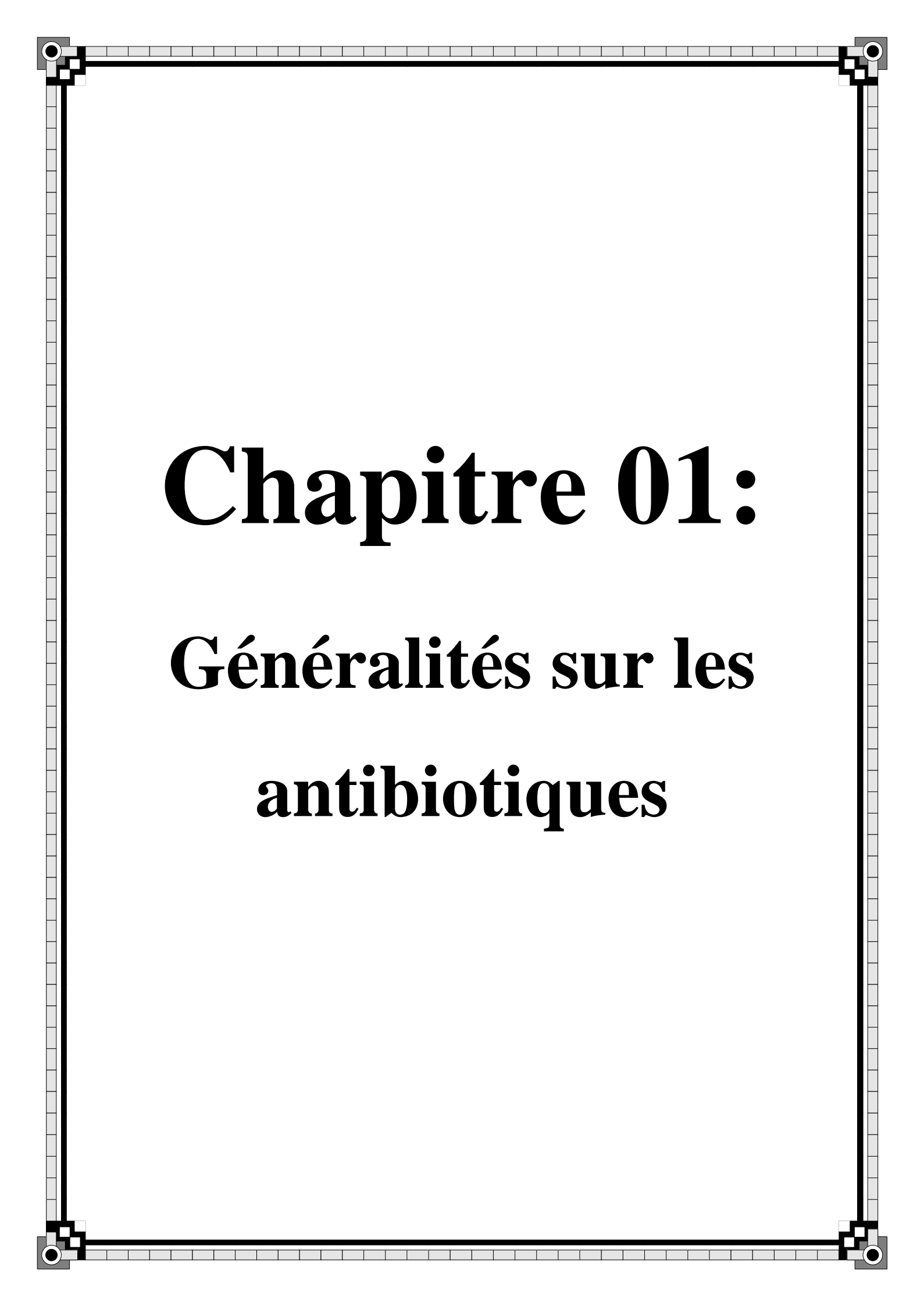
---

par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes [5].chez les bacilles à Gram négatif, la résistance à ces molécules a évolué et est liée principalement à des systèmes d'efflux, à l'imperméabilité membranaire aux molécules hydrophobe, ce dernier étant le mécanisme de résistance le plus fréquent[6].

*Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les biologistes pour des travaux de physiologie et de génétique. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. Au cours des dernières décennies, le rôle de certaines catégories d'*E. Coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés [7].

Le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli*, à l'ordre des *Bacillales* et à la famille des *Staphylococcaceae*. Jusqu'à la fin des années 1990, le genre *Staphylococcus* était classé au sein de la famille des *Micrococcaceae* mais l'analyse de son génome a conduit à la réorganisation de la classification.

*Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquitaire. Elle se retrouve chez les hommes ainsi que chez de nombreuses espèces animales, aussi bien dans le cadre d'infections qu'en portage asymptomatique [8].Chez l'homme, à l'âge adulte environ 20% de la population présente un portage permanent principalement au niveau des fosses nasales antérieures qui est le site de colonisation le plus fréquent. 30% de la population est porteur intermittent et 50% ne sont pas porteurs de *S.aureus* [9].



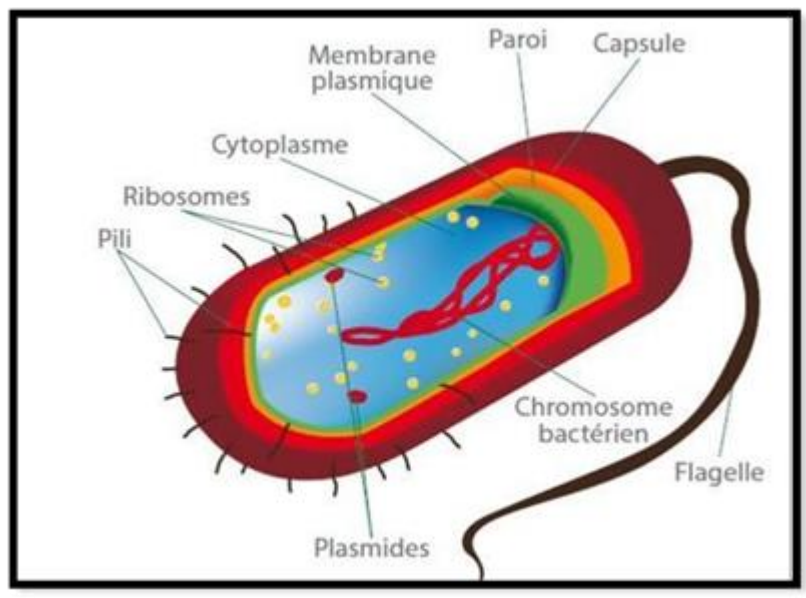
# **Chapitre 01:**

## **Généralités sur les**

### **antibiotiques**

**Introduction**

Un antibiotique est souvent considéré comme une substance produite par un microorganisme, active à des concentrations de l'ordre du mg/l et interagissant d'une manière spécifique au niveau d'une structure ou d'une enzyme d'une voie métabolique, perturbant de ce fait la vitalité des bactéries. De nombreux antibiotiques sont des composés semi-synthétiques, un noyau centrale d'origine naturelle étant substitué par de nombreux radicaux obtenus par synthèse (exemple des macrolides). D'autres composés sont entièrement synthétiques (sulfamides, nitrofurannes, et des nombreux antituberculeux) [10]. Les antibiotiques sont classés en plusieurs grandes familles (bêta-lactamines, aminosides, cyclines, macrolides, quinolones rifamycines, etc.), elles-mêmes divisées en groupes. Chaque groupe est caractérisé par un spectre d'activité correspondant aux germes sur les quels l'antibiotique est actif. Chaque antibiotique au sein d'un même groupe peut différer par des propriétés pharmacocinétiques ou un profil de résistance différent [11].



**Figure 1: structure d'une bactérie [12].**

**I. Généralité sur les antibiotiques :****Définition :**

Issus du Grec antibios qui signifie « contre la vie », les antibiotiques, selon Waksman, sont des substances chimiques produites par des microorganismes, capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres organismes.

Cette définition est considérée actuellement comme un peu trop stricte et on lui préfère l'énoncé suivant : on appelle antibiotique « tout composé chimique, élaboré par un organisme

vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose, d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certaines cellules des êtres pluricellulaires » [13]. Ayant un site d'action bien défini et un mécanisme précis permettant leur utilisation dans le traitement de la majorité des infections [14].

### Historique :

L'histoire des antibiotiques est liée à la découverte des microorganismes bactériens [14]. Les bactéries ont été identifiées pour la première fois vers 1670 par Van Leeuwenhoek, à la suite de l'invention du microscope par ce naturaliste hollandais. Ce n'est toutefois qu'au XIX<sup>ème</sup> siècle que leur lien avec les maladies fut reconnu. C'est en effet grâce aux expériences élégantes de Pasteur, un savant français, qui démontra que c'est à cause de souches particulières de bactéries que la fermentation peut se produire, que l'on comprit que ces bactéries et autres microorganismes étaient beaucoup plus disséminés que prévu.

L'idée que de tels microorganismes soient responsables de certaines maladies commença à prendre corps [15], en 1887 avec les travaux de PASTEUR et JOUBERT qui constatèrent que les cultures des bactéries de charbon poussaient difficilement lorsqu'elles étaient en contact des bactéries aérobies saprophytes. Ils conclurent qu'il était possible d'obtenir des médicaments à partir de cette expérience [5].

Rôle des acteurs hospitaliers dans le bon usage des antibiotiques :

Le bon usage des antibiotiques implique de nombreux acteurs et impose une organisation transversale.

L'efficacité d'une politique antibiotique suppose de dégager les moyens humains, matériels et informatiques nécessaires. Cela peut s'inscrire dans une dynamique de contractualisation.

En dehors de l'organisation centrée sur les acteurs institutionnels, trois acteurs se doivent de collaborer autour du bon usage des anti-infectieux : le laboratoire de microbiologie, la pharmacie et les services cliniques [16].

### Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les microorganismes par plusieurs mécanismes (voir Figure 04). On peut distinguer cinq mécanismes distincts par lesquels les substances antibactériennes pourraient agir :

### **Action sur la paroi bactérienne :**

La synthèse des peptidoglycanes de la paroi bactérienne est perturbée par l'inhibition de certaines enzymes : transpeptidase. Les bêta-lactamines, la cycloserine, la bacitracine, la vancomycine agissent par ce mécanisme, de préférence sur les bactéries jeunes dont la paroi est en cours d'édification. Les cocci Gram positif dont la paroi est riche en peptidoglycanes sont plus sensibles que les cocci Gram négatif.

### **Action sur la membrane cytoplasmique :**

Certains antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité de cette membrane. Ils opèrent comme les agents tensioactifs cationiques.

Les constituants cellulaires s'échappent du cytoplasme bactérien, ce qui provoque la mort de la cellule. La polymyxine, la colistine, la bacitracine, la tyrothricine, qui sont des polypeptides cycliques à caractère basique.

### **Action sur la réplication de l'ADN :**

L'actinomycine D, les rifamycines, l'acide nalidixique perturbent la réplication de l'acide désoxyribonucléique.

### **Action sur la traduction de l'ARN messenger :**

L'ARN messenger ou l'ARN de transport sont les cibles des antibiotiques et les mécanismes de traduction de l'ARN messenger sont troublés (perturbation de la synthèse protéique). La streptomycine et les aminosides se fixent sur la sous-unité ribosomale 30S, les tétracyclines, le chloramphénicol, les macrolides interviennent de diverses manières sur la sous unité ribosomale 50S.

### **Action sur le métabolite intermédiaire :**

La cycloserine, les sulfamides, l'acide para-aminosalicylique, le triméthoprime et l'isoniazide inhibent un système enzymatique (dihydrofolate réductase, mycolate synthétase, etc.). Ces composés inhibent le métabolisme du microorganisme ciblé, mais pas celui de l'hôte. Pour ce faire, ils bloquent une réaction enzymo-catalysée qui doit se réaliser dans la cellule bactérienne mais pas dans les cellules animales [13].

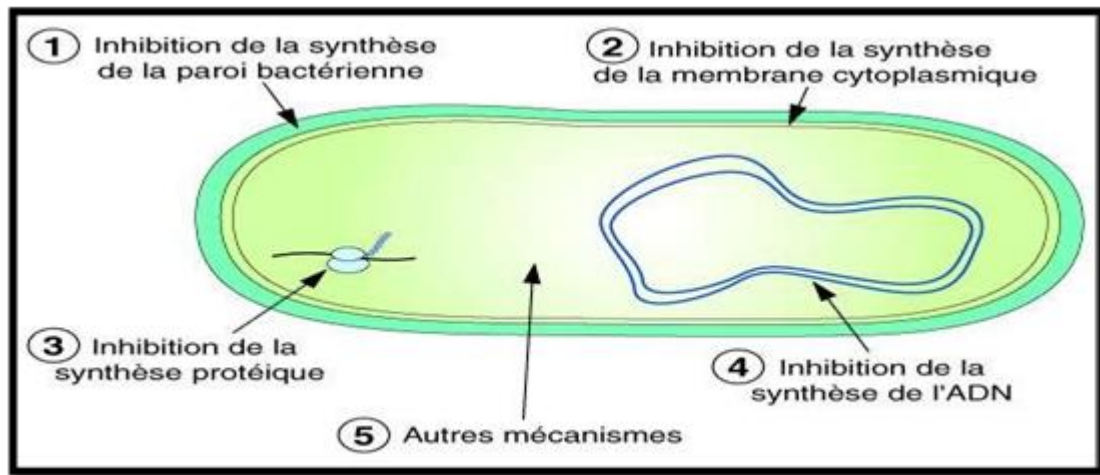


Figure 2: Représentation des principales cibles des antibiotiques..[5].

### Les familles des ATB :

Ces grandes familles d'antibiotiques se différencient par :

- leur spectre d'activité, c'est-à-dire l'ensemble des germes sensibles à chaque famille d'antibiotiques
- leurs indications, directement liées au spectre d'activité et à la diffusion de l'antibiotique dans les différents organes : par exemple, certains antibiotiques se concentrent dans les urines et sont particulièrement intéressants en cas d'infection urinaire.
- leur voie d'utilisation : les antibiotiques peuvent être pris par voie orale, à l'exception des aminosides qui sont détruits dans l'intestin. Il existe également des collyres, des solutions auriculaires ou nasales et des pommades contenant des antibiotiques. Ces formes locales sont parfois suffisantes pour combattre des certaines infections.
- leur mode d'emploi et leur fréquence d'utilisation il existe pour certaines infections des traitements mono doses par exemple.
- leurs contre-indications
  - leurs effets indésirables : réaction allergique, diarrhée, photo sensibilisation, tendinite, toxicité rénale sont des effets indésirables qui caractérisent certaines familles d'antibiotiques. L'apparition d'un effet indésirable grave limite l'utilisation ultérieure des médicaments appartenant à la même famille [17].

### Résistance aux antibiotiques :

#### Définition :

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un

grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres

souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage, le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité.

Nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pas pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique [18].

Mécanisme :

Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou structure clé impliquée dans la synthèse de la paroi, les acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique. La résistance bactérienne aux antibiotiques est un facteur compliquant l'action de ces antibiotiques.

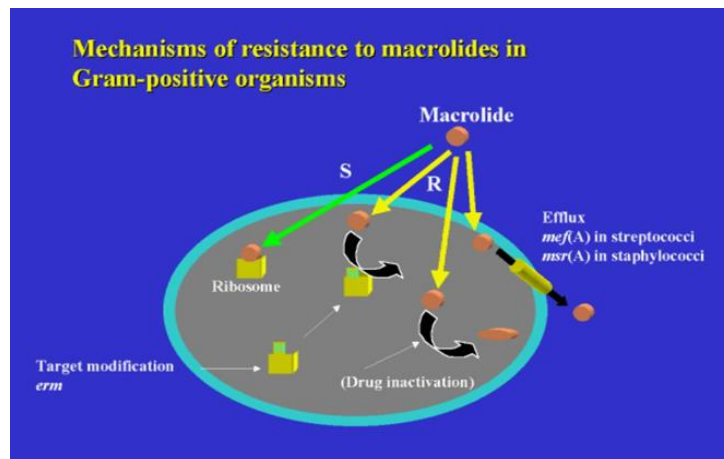


Figure 3: mécanismes de résistance des organismes Gram négatif aux macrolides

Il en existe 3 modes :

- La modification de la cible : la cible de l'antibiotique est modifiée et l'antibiotique ne peut plus s'y fixer.
- L'inactivation enzymatique : l'antibiotique est modifié par la production d'une enzyme bactérienne et ne reconnaît plus sa cible.
- L'imperméabilité : c'est la diminution de la pénétration et l'efflux actif par des pompes plus ou moins spécifiques. (Guillemot D, Leclercq. R.) .Ces mécanismes sont responsables :

**a.** Résistance naturelle :

La résistance naturelle appelée aussi résistance intrinsèque, c'est une caractéristique présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Portée par les chromosomes, elle est stable, et transmise à la descendance.

Elle détermine le phénotype « sauvage » des bactéries et délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les BGN entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosami des, streptogramines, etc.)

Elle a pour support génétique le chromosome bactérien mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

Exemples de résistances naturelles :

1/ *Klebsiella* spp. Produit naturellement des bêta-lactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace péri plasmatique de la bactérie et conduit à la destruction d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne ;

2/ les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies[18].

3 /Escherichia coli et Salmonella thyphi sont des bactéries gram négatif naturellement résistantes aux macrolides car leurs membrane cellulaire externe est imperméable aux molécules hydrophobes

### **b.** Résistance acquise :

A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre ; dans certains cas, elle peut concerner la grande majorité de ces souches comme, par exemple, la production de pénicillinase chez le staphylocoque qui intéresse plus de 90 % des souches.

Elle est Variable dans le temps et dans l'espace, et se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique.

La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes[18].

L azithromycine a par exemple été très utilisée pour traiter l'angine streptococcique causée par streptococcus pyogènes chez les patients allergique ou sensible à la pénicilline mais des souches streptococciques de groupe A (GAS) sont devenues résistantes aux macrolides ;la céphalosporine est alors une autre option pour ces patients

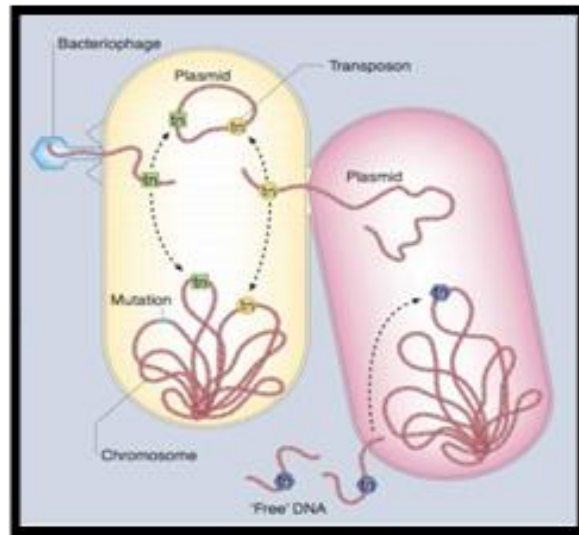


Figure 4: Résumé des différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques[19].

### Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques selon les critères choisis :

- 1) **Composition chimiques** : selon nombre d'atomes de carbone et selon les fonctions chimiques.
  - 2) Origine :
    - a) Extractive : bactéries, moisissures (Penicillium, Céphalosporium, Streptomyces,...).
    - b) Semi synthétique.
    - c) Synthétisés chimiquement.
- 3) **Spectre d'action** : très large, large, moyen, étroit.
- 4) **Type d'action** : bactériostatiques, bactéricides.
  - a) Bactéricides temps dépendants : en fonction de la durée d'exposition.
  - b) Bactéricides dose (concentration) dépendantes : jusqu'à un certain seuil (dose).
- 5) Cibles bactériennes d'attaque :
  - a) Paroi bactérienne : sur les bactéries en phase de multiplication.
  - b) Membrane bactérienne : même sur les bactéries en phase de repos.
  - c) ARN ou ADN bactérien : (ADN, ARN gyrase).
  - d) Inhibition des protéines bactériennes : au niveau des sous unités 30 S 50S des ribosomes.

- e) Métabolites bactériens.
- f) Plusieurs mécanismes à la fois.
- 6) **Charge électrique** : d'après leur charge électrique en solution :
  - a) Antibiotiques acides se comportent comme des anions .
  - b) Antibiotiques basiques se comportent comme des cations .
  - c) Antibiotiques se comportent comme molécules neutres, non ionisées (ex chloramphénicol).
- d) 7)**Hydro ou lipophile** :
  - a) Hydrophile : coefficient de partition < 0,1.
  - b) Lipophile : coefficient de partition  $\geq 2$ .
- 8) **Classification des antibiotiques par familles** : C'est la classification la plus courante, possédant un certains nombre de caractères communs : composition chimique ou origine, spectre d'action similaire, cibles bactérien identique, etc[20].

## **II Antibiotique macrolides:**

### **II.1.Définition :**

Les macrolides sont des molécules à propriétés antibiotiques bactériostatique, qui ont des macrocycles de lactone souvent associés à des sucres neutres ou aminés. Elles constituent une famille d'antibiotiques capables de diffuser dans les tissus, voire à l'intérieur des cellules. Elles font partie des inhibiteurs de la synthèse protéique. Ils sont donc actifs sur les germes intracellulaires. Il existe plusieurs types de macrolides avec 14, 15 ou 16 atomes dans leur macrocycle .....85

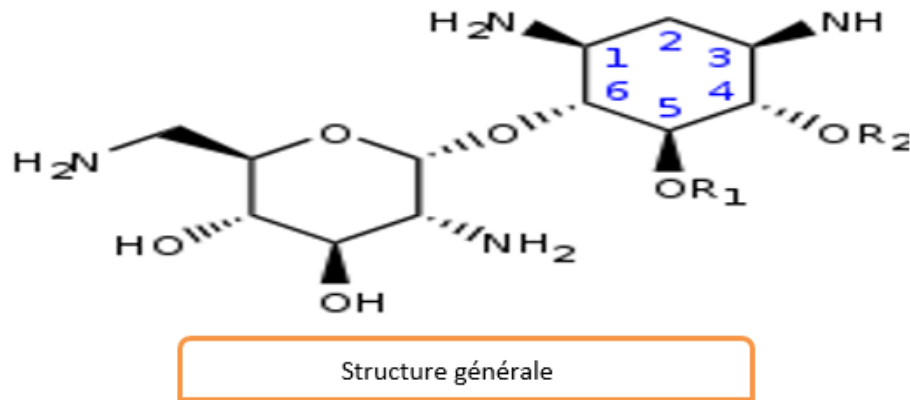


Figure 5: structure générale du noyau macrolide .....[85].

La première molécule de la classe est l'érythromycine isolée en 1952, en totale neuf molécules ont été mise sur le marché dont huit sont encore disponible, toutes ces molécules présentent des caractéristiques similaires et quelques particularités, ils possèdent un noyau lactone centrale auquel sont liés des sucres ; au moins 2 sucres: aminés ou neutres

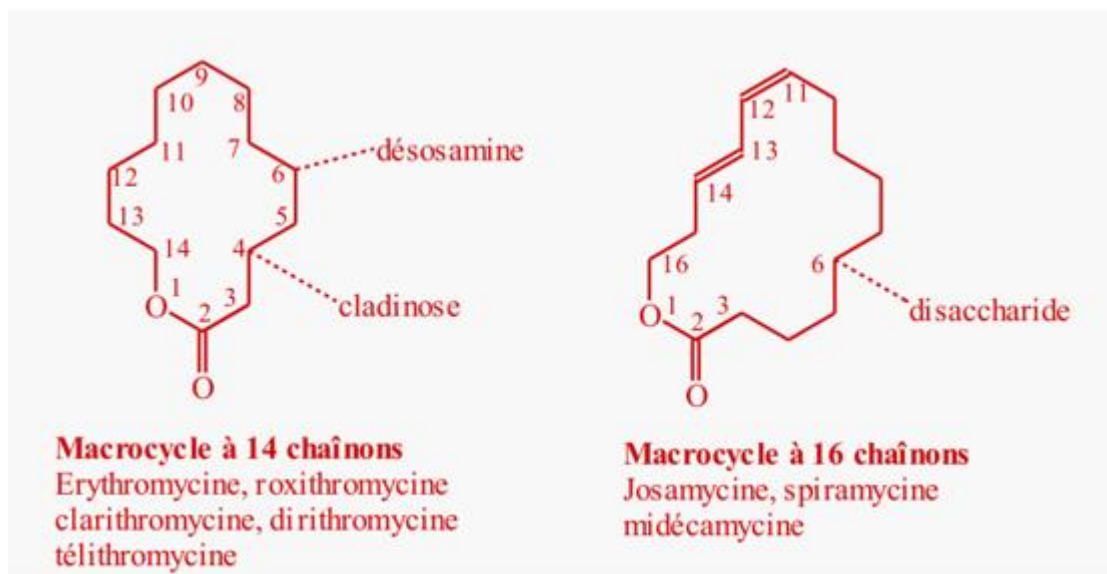


Figure 6: macrocyte a 14 et 16 chainons. ....[85].

L'érythromycine est un antibiotique macrolide qui a un spectre antimicrobien similaire ou légèrement plus large que celui des pénicillines. Elle est souvent utilisée chez des personnes allergiques aux pénicillines. Pour les infections des voies respiratoires, elle offre un meilleur spectre contre des organismes atypiques y compris le mycoplasme. On l'utilise également pour traiter les infections à Chlamydia, la syphilis, et la gonorrhée. Sous forme de traitement dermique local, elle est fréquemment utilisée pour traiter l'acné.

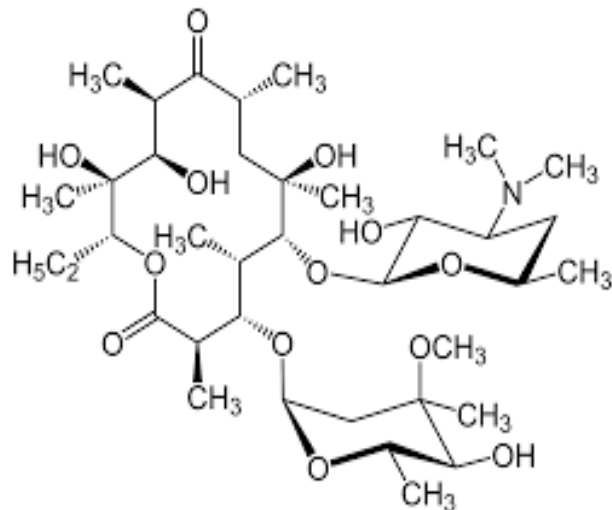


Figure 7: structure de l'érythromycine A .....[87].

La résistance bactérienne croissante a cette famille d'antibiotique sera l'objet de ce mémoire

## II.2 Classification des macrolides

On les classe parfois en diverses générations :

❖ 1ère génération :

Cycle à 14 atomes de carbone: érythromycine A

Cycle à 16 atomes de carbone: spiramycine

❖ 2ème génération:

Cycle à 14 atomes de carbone : clarithromycine, roxithromycine

Cycle à 15 atomes de carbone : azithromycine

Cycle à 16 atomes de carbone : midécamycine, josamycine .

❖ 3ème génération (Kétolides) :

cycle à 14 atomes de carbone : télithromycine .....[85].

Tableau récapitulatif des principaux médicaments macrolides commercialisés

Nom de la molécule active	Nom commercial des médicaments
azithromycine	Zithromax, Ordipha, Azadose
clarithromycine	Naxy, Zeclar
érythromycine	Ery, Erythrocin
josamycine	Josacine
midécamycine	Mosil

roxythromycine	Rulid, Claramid
spiramycine	Rovamycine

**Tableau 1: récapitulatif des principaux médicaments macrolides commercialisés**

**Erythromycine et spiramycine**

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.

Par voie cutanée, seule ou en association à la trétinoïne, l'érythromycine est utilisée dans la prise en charge d'acnés.

Par voie orale, en association avec le sulfafurazole, l'érythromycine est utilisée dans la prise en charge d'otites moyennes aiguës.

**Espèces sensibles :**

- aérobies à Gram + : *Bacillus cereus*, *Corynebacterium diphtheriae*, entérocoques, *Rhodococcus equi*, *staphylococcus méti-S*, *staphylococcus méti-R*, *streptococcus B*, *streptococcus non groupable*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* ;
- aérobies à Gram - : *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *campylobacter*, *legionella*, *moraxella* ;
- anaérobies : *actinomyces*, *bacteroides*, *eubacterium*, *mobiluncus*, *peptostreptococcus*, *porphyromonas*, *prevotella*, *Propionibacterium acnes* ;
- autres : *Borrelia burgdorferi*, *chlamydia*, *coxiella*, *leptospires*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Treponema pallidum*.

**Espèces modérément sensibles (in vitro de sensibilité intermédiaire) :**

- aérobies à Gram - : *haemophilus*, *Neisseria gonorrhoeae* ;
- anaérobies : *Clostridium perfringens* ;
- autres : *Ureaplasma urealyticum*.

**Espèces résistantes :**

- aérobies à Gram + : *Corynebacterium jeikeium*, *Nocardia asteroides* ;

- aérobies à Gram - : *acinetobacter*, entérobactéries, *pseudomonas* ;
- anaérobies : *fusobacterium* ;
- autres : *Mycoplasma hominis*.

### Cas d'usage de l'érythromycine et spiramycine:

- angines,
- bronchites aiguës surinfectées,
- bronchites chroniques surinfectées,
- acnés,
- dermohypodermites infectieuses,
- ecthymas,
- érysipèles,
- érythrasmas,
- impétiginisations de dermatoses,
- impétigos,
- infections génitales non gonococciques,
- infections stomatologiques,
- pneumopathies,
- rhumatismes articulaires aigus, chimioprophylaxie des rechutes,
- sinusites
  
- bronchites chroniques surinfectées,
- infections cutanées,
- infections ostéoarticulaires,
- infections urogénitales,
- pneumopathies,
- septicémies. ....[85].

**Clarithromycine** : Ce médicament est un générique de ZECLAR qui appartient à la famille des macrolides.

Les granulés pour suspension buvable sont utilisés chez l'enfant dans le traitement de diverses infections de la gorge, des bronches et des poumons.

Les comprimés à 250 mg sont utilisés chez l'adulte dans :

- le traitement de diverses infections des sinus, des bronches, des poumons, de la gorge, de la peau, des gencives et des dents ;
- le traitement de certaines infections opportunistes chez les personnes infectées par le VIH.

Les comprimés à 500 mg sont utilisés chez l'adulte dans :

- le traitement de diverses infections des sinus, des bronches et des poumons ;
- le traitement de certaines infections opportunistes chez les personnes infectées par le VIH ;

### Attention

Les antibiotiques de la famille des macrolides exposent à un risque de torsades de pointes.

Association avec d'autres médicaments susceptibles de donner des torsades de pointes, rythme cardiaque lent (bradycardie) ou irrégulier (arythmie cardiaque), insuffisance cardiaque grave, angine de poitrine, déficit en magnésium.

- D'une rougeur cutanée avec des pustules et de la fièvre ;
- De signes d'atteinte hépatique, tels que perte d'appétit, jaunisse, urines anormalement foncées, démangeaisons.
- Une diarrhée importante survenant pendant ou dans les jours qui suivent le traitement antibiotique

Des précautions sont nécessaires en cas d'insuffisance hépatique grave ou d'insuffisance rénale des étourdissements, des sensations de vertiges, une confusion ou une désorientation sont possibles. Assurez-vous que vous supportez bien ce médicament avant de conduire ou d'utiliser une machine dangereuse.

Son association est déconseillée avec certains immunosuppresseurs (ciclosporine, évérolimus, sirolimus, tacrolimus) et les médicaments qui contiennent les substances suivantes : bromocriptine, cabergoline, pergolide, lisuride, bosutinib, disopyramide, ébastine, halofantrine, irinotécan, oxycodone, quinidine, rivaroxaban, siméprévir, tamsulosine, toltérodine.

Il peut également interagir avec de nombreux autres médicaments. .

L'effet de ce médicament pendant la grossesse est mal connu

Ce médicament est susceptible de passer dans le lait maternel. ....[89].

### L' azythromicyne

Ce médicament est un générique de zithromax

Il appartient à la famille des macrolides.

Les comprimés à 250 mg sont utilisés chez l'adulte dans :

- Le traitement de diverses infections des sinus, des bronches, des poumons, de la gorge, de la peau, des gencives et des dents ;
- Le traitement de certaines infections opportunistes chez les personnes infectées par le vih.

Les comprimés à 500 mg sont utilisés chez l'adulte dans :

- Le traitement de diverses infections des sinus, des bronches et des poumons ;
- Le traitement de certaines infections opportunistes chez les personnes infectées par le VIH ;
- L'éradication d'*helicobacter pylori* (responsable d'ulcères gastroduodénaux récidivants) en association à d'autres médicaments.

Il est utilisé dans le traitement des infections de la gorge, des bronches, des gencives et des dents

### **Midécamycine :**

Le diacétate de midécamycine est un antibiotique semi-synthétique appartenant à la famille des macrolides.

Ce produit est totalement métabolisé dans l'organisme en donnant rapidement naissance à 3 métabolites principaux (mb 12, mb 6, et mb 9a) responsables de l'activité antibactérienne du produit.

Ces 3 métabolites ont tous des activités différentes plus ou moins inférieures à celle du diacétate de midécamycine

Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes sont :  $s \leq 1 \text{ mg/l}$  et  $r > 4 \text{ mg/l}$ .

La midécamycine possède une activité *in vitro* et *in vivo* sur *toxoplasma gondii*

### **La télithromycine**

La télithromycine est un dérivé semi-synthétique de l'érythromycine a. Elle appartient à la famille des kétolides, classe d'agents antibactériens apparentée aux macrolides.

La télithromycine inhibe la synthèse protéique par interaction avec les domaines ii et v de la fraction 23 s de l'arn (acide ribonucléique) ribosomal de la sous-unité 50 s du ribosome. De plus, la télithromycine est capable de bloquer la formation des sous-unités 50 s et 30 s.

L'affinité de la télithromycine pour la sous-unité 50 s du ribosome pour les bactéries sensibles à l'érythromycine a est 10 fois plus forte que celle de l'érythromycine a.

Les concentrations critiques recommandées par l'eucast (*european committee for antimicrobial susceptibility testing*) sont :

- *Streptococcus a, b, c, g* : s  $\leq$  0,25 mg/l et r  $>$  0,5 mg/l,
- *Streptococcus pneumoniae* : s  $\leq$  0,25 mg/l et r  $>$  0,5 mg/l,
- *Haemophilus influenzae* : s  $\leq$  0,12 mg/l et r  $>$  8 mg/l,
- *Moraxella catarrhalis* : s  $\leq$  0,25 mg/l et r  $>$  0,5 mg/l.

**Espèces habituellement sensibles :**

- Aérobie à gram + : *staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (sasm), *streptococcus pneumoniae*, *streptococcus sp.*, streptocoques du groupe viridans ;
- Aérobie à gram - : *haemophilus influenzae*, *haemophilus para-influenzae*, *legionella pneumophila*, *moraxella catarrhalis* ;
- Autres : *chlamydia pneumoniae*, *chlamydia psittaci*, *mycoplasma pneumoniae*.

**Espèces inconstamment sensibles (résistance acquise  $\geq$  10 %) :**

- Aérobie à gram + : *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (sarm), *streptococcus pyogenes*.

**Espèces naturellement résistantes :**

- Aérobie à gram - : *acinetobacter*, entérobactéries, *pseudomonas*.

**La télithromycine est utilisée dans la prise en charge de :**

- Angines streptococciques,
- Bronchites chroniques,

- Pneumopathies,
- Sinusites. ....[89].

### II.3 :Usage clinique : on générale les indications des macrolides sont

#### Indications courantes :

#### Les indications les plus courantes des macrolides sont :

- Les angines à streptocoques (en traitement court) ;
- Les infections orl : bronchopneumopathies, sinusites, otites.
- Les infections urogénitales : les macrolides traitent de nombreuses maladies sexuellement transmissibles ;
- Les infections dermatologiques : impétigo, érysipèle, acné, furonculose ;
- Les infections dentaires.

#### Indications particulières :

#### Certains macrolides sont indiqués :

- Dans le traitement de la **toxoplasmose** : on peut utiliser la spiramycine chez la femme enceinte ;
- Dans les complications infectieuses du **sida** : on utilise l'azithromycine en prévention et la clarithromycine en traitement curatif ;
- Dans le traitement de l'**ulcère gastrique** dû à une bactérie (*helicobacter pylori*) : on utilise la clarithromycine en association avec d'autres médicaments antibiotiques et antisécrétoires gastriques.....[89].

### II.4 : Mode d'action :

Les macrolides ont un spectre d'activité étroit, aussi de nombreuses bactéries leur résistent. Ils ne peuvent donc pas être utilisés contre toutes les infections microbiennes.

Ils sont principalement actifs sur :

- Des cocci (bactéries en forme de coques) : streptocoques, staphylocoques, pneumocoques, méningocoques ;
- Des germes intracellulaires : chlamydia, neisseria, mycoplasmes.

Ils ont une action principalement bactériostatique (arrêtant la prolifération des bactéries) mais ils peuvent être bactéricides (tuant les bactéries) à forte dose.

Les macrolides agissent au niveau de la synthèse protéique de la bactérie, en empêchant la synthèse protéique, par fixation sur la sous unité 50s des ribosomes bactériens. La réplication, la duplication et donc la division cellulaire bactérienne sont ainsi stoppées (c'est la bactériostase).

La connaissance de la structure de la structure du ribosome et de la paroi bactérienne et le rôle physiologique des cibles de ces agents antibiotiques permet de mieux comprendre le mécanisme d'action des macrolides par la suite les mécanismes des résistances des bactéries à ces antibiotiques ( e)

### II.5 Mécanisme d'action des macrolides:

le ribosome est un organite présent dans le cytoplasme, siège de la synthèse protéique, il décode l'information génétique.

Le ribosome bactérien 70s est composé de sous unités 30s et 50s

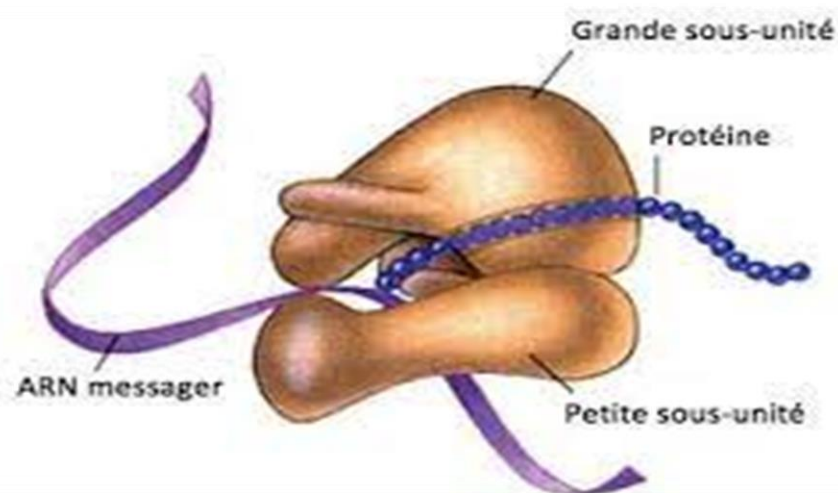


Figure 8: structure générale du ribosome .....[87].

la sous unité 30s assure le choix de l'ARNt, et le décodage de l'information portée par l'ARNm

La sous unité 50s assure la formation de la liaison peptidique entre les aa portés par l'ARNt

Les macrolides (des bactériostatiques) à chaîne 14 ou 16 carbones altèrent la synthèse

des protéines bactériennes en se fixant sur les ribosomes (sous-unité 50s) et en bloquant ainsi cette synthèse par encombrement stérique. ....[87].

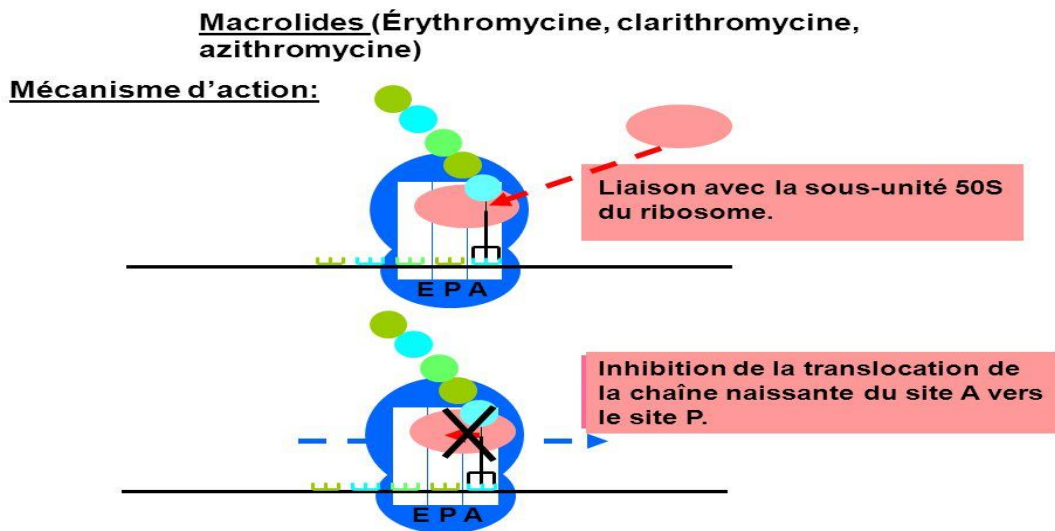


Figure 9: mécanisme d'action des macrolides. ....[91].

Les macrolides sont éliminés au niveau de la bile.

**La pénétration à la bactérie :**

L'enveloppe des entérobactéries comprend, de l'extérieur vers l'intérieur : la membrane externe, la paroi (peptidoglycane) et la membrane cytoplasmique

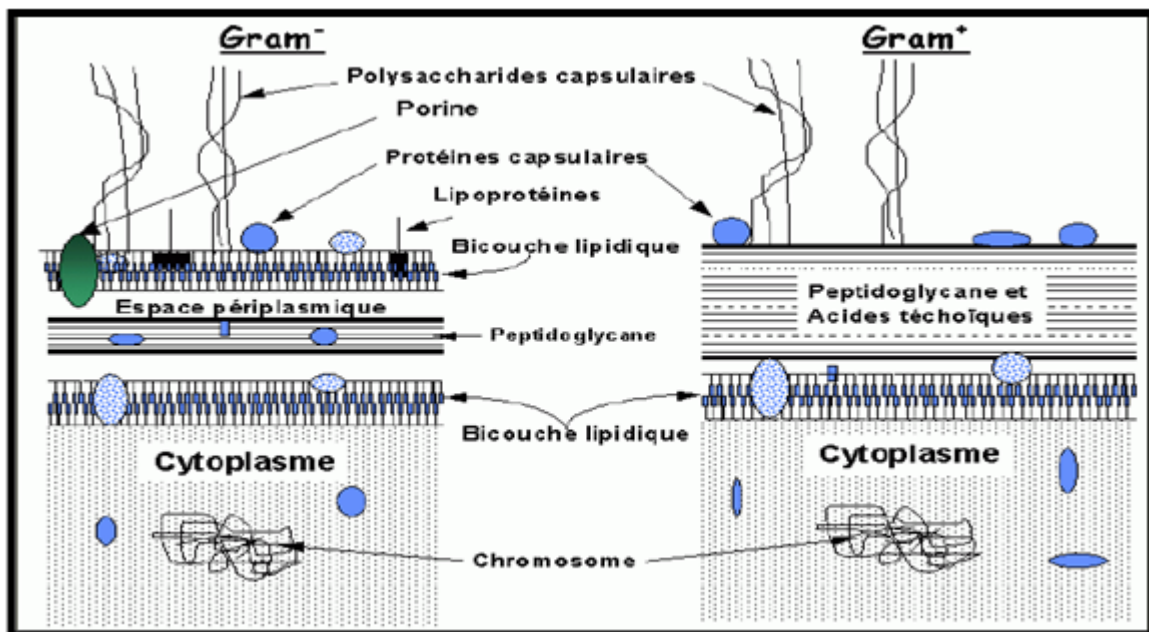


Figure 10: Structure de la paroi bactérienne [31].

La pénétration à la bactérie se fait par diffusion passive car aucun transporteur spécifique n'a été mis en évidence

Les bactéries à Gram+ ont une pénétration facile et les bactéries à Gram- pénétration par les porines . Chez les bactéries à Gram négatif, ces propriétés de perméabilité vont contribuer à définir le phénotype naturel de résistance propre à chaque espèce bactérienne

Les macrolides traversent la membrane cytoplasmique par diffusion passive ce mécanisme met en jeu un différentiel de PH entre l'intérieur et l'extérieur du cytoplasme, la charge de la molécule varie en fonction de PH, et la forme non ionisée passe rapidement la bicouche lipidique pour atteindre le milieu interne plus acide à accumulation préférentielle des macrolides dans les PNN, macrophage, lysosome .....[85].

Mécanisme d'action intracellulaire :

Les macrolides sont tous des inhibiteurs de la synthèse des protéines par le biais d'une fixation sur la sous unité 50S du ribosome bactérien.

- Pour l'érythromycine la liaison d'une seule molécule par ribosome entraîne une inhibition de la synthèse protéique.

- L'érythromycine bloque par encombrement stérique la croissance de la chaîne peptidique et provoque la dissociation du peptidyl-ARNt dès lors que le peptide a atteint une longueur de 6 à 8 acides aminés ; de plus elle empêche l'assemblage du ribosome au moment de l'initiation de la synthèse protéique.

Effet antibactérien: Les macrolides sont bactériostatiques à faibles concentrations mais possèdent une activité bactéricide à fortes concentrations sur certaines espèces bactériennes: les streptocoques et Haemophilus influenzae, et germes à multiplication intracellulaire.....[85].

### II.6 Kétolides :

La Télétromycine est le seul commercialisé

Ce sont des dérivés semi synthétiques de l'érythromycine, ils possèdent donc un noyau lactone centrale de 14 atomes, en C3 une fonction cétone (3Kéto)

Chaîne C11-C12 carbamate : Augmente l'affinité pour les cibles ribosomales et Améliore l'activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positif et diminue l'impact de la résistance par efflux .....[85].

### II.7 Mécanisme d'action :

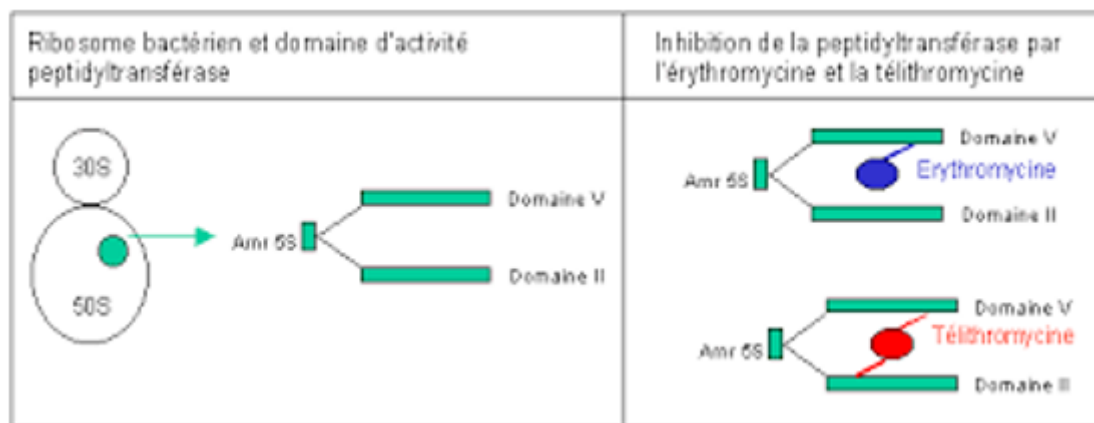
La télithromycine inhibe la synthèse protéique bactérienne en agissant au niveau des ribosomes.

Pour les souches sensibles à l'érythromycine, l'affinité de la télithromycine pour la sous-unité 50 S du ribosome bactérien est 10 fois plus forte que celle de l'érythromycine.

Pour les souches résistantes à l'érythromycine de type MLSB, l'affinité de la télithromycine pour la sous-unité 50 S est 20 fois supérieure à celle de l'érythromycine A. ....[85].

La télithromycine agit par blocage de la traduction de l'ARN au niveau de la fraction ribosomale 23 S, au niveau des domaines V et II.

De plus, la télithromycine est capable de bloquer la formation des sous-unités 50 S et 30 S.



Domaine V (près du centre de la péptidyl-transférase lieu de synthèse de la chaîne polypeptidique): Site de fixation principal E Par contre, affinité de fixation des kétolides au domaine II est 10 fois >> celle E

## II.7 Conclusion

L'antibiorésistance est un phénomène naturel de défense des bactéries vis-à-vis des antibiotiques. Le support de cette résistance est génétique. La multiplicité des voies d'acquisition et de transmission de la résistance bactérienne explique la difficulté à contrôler ce phénomène.

La surconsommation et la mauvaise utilisation des antibiotiques et la présence des résidus des antibiotiques dans les aliments d'origine animale sont des facteurs de risques majeurs de

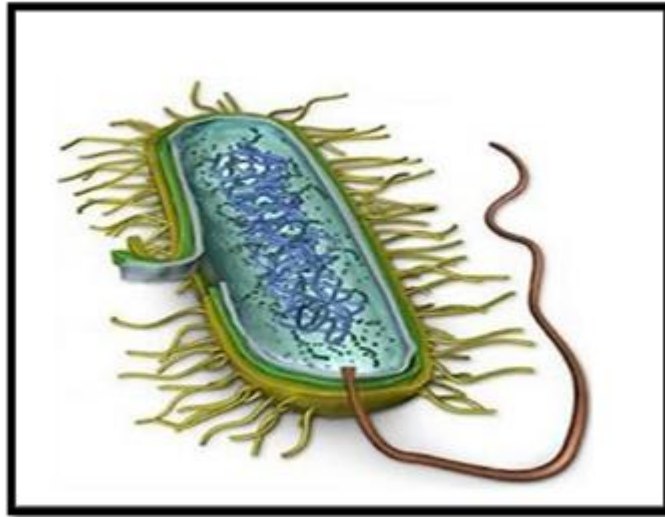
L'augmentation de l'antibiorésistance chez l'homme et l'animal.



**Figure 11: Inhibition de la croissance d'une culture de Staphylococcus aureus par les macrolides**

# **Chapitre 02:**

## **Les bacéries**



**Figure 12: Structure d'une bactérie**

## Introduction

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire, c'est-à-dire un organisme de très petite taille (observable uniquement au microscope, non visible à l'œil nu) et formé d'une seule cellule.

Les bactéries sont des organismes procaryotes, c'est-à-dire qu'ils ne contiennent pas de noyau. Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique circulaire. Dans le cytoplasme, on trouve d'autres éléments comme les ribosomes essentiels à la fabrication de protéines ou encore des organites responsables du fonctionnement métabolique [34].

Les bactéries se reproduisent par scissiparité : chaque division bactérienne donne naissance à deux bactéries filles identiques, un clone est en fait constitué. Elles sont capables d'échanger du matériel génétique (phénomène de conjugaison, par exemple, nous les verrons par la suite) et d'acquérir ainsi de nouveaux caractères par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons. Cet échange de « matériel de résistance » est important pour comprendre l'apparition de ces dernières chez des souches d'abord sensibles puis résistantes à un antibiotique donné [35].

Toutes les bactéries ne sont pas néfastes au corps humain, loin de là, l'Homme est d'ailleurs colonisé par plusieurs centaines de milliards de bactérie dont le rôle est de veiller à notre protection. Dans le tube digestif par exemple, l'homme héberge quelques 100 000 milliards de micro-organismes vivants. On parle de microbiote ou flore intestinale, ce dernier est très utile à la digestion. La peau est également recouverte d'un microbiote empêchant des bactéries pathogènes de venir prendre leur place, ce qui peut conduire à une infection cutanée[36].

L'homme a par ailleurs plus de bactéries qu'il n'a de cellules, à eux seuls les intestins contiennent  $10^{13}$  bactéries contre  $10^{12}$  cellules pour le corps humain[37].

## I. Leur forme structurelle :

Les bactéries possèdent toutes, à de rares exceptions près (ex : le mycoplasme), une paroi protectrice rigide. Celle-ci conditionne leur forme : ronde pour les coques appelés cocci, allongée pour les bacilles, spiralée pour les spirochètes par exemple. (figure10)

En fonction de leur habitat, de l'organisme dans lequel elles sont implantées et de leurs interactions avec cet organisme, elles sont classées en saprophytes (présentes dans l'environnement mais n'entraînant pas d'infection), commensales (hôtes habituels du sujet normal) et opportunistes qui sont en réalité des bactéries saprophytes ou commensales mais pouvant, dans certaines conditions (exemple un sujet immunodéprimé, une hospitalisation) engendrer une infection [35].

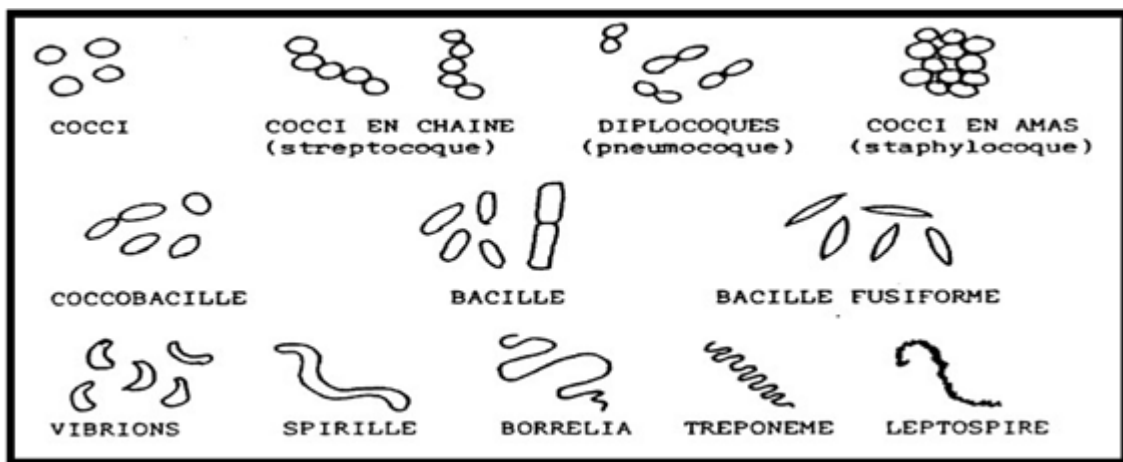


Figure 13: représentation des différentes formes bactériennes...[26].

## II. Leur paroi : comparatif Gram + et Gram – :

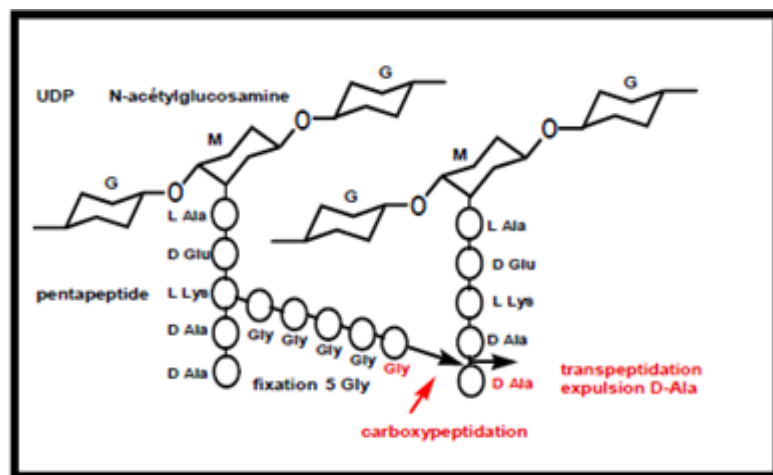
La paroi est présente chez toutes les espèces de bactéries sauf les mycoplasmes, il s'agit de la structure la plus externe à la bactérie. Son rôle est de maintenir l'intégrité structurelle de la bactérie. En effet, malgré la forte pression osmotique (5 à 20 atmosphères) qui règne à l'intérieur du cytoplasme bactérien, la bactérie n'éclate pas grâce à l'existence de cette structure rigide et de nature polymérique. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, spécifique des bactéries, est partout présente : c'est la muréine, appelée par extension peptidoglycane.

On peut distinguer deux grandes classes de bactéries, caractérisées par une architecture distincte de la paroi cellulaire qui les entoure. C'est à l'aide d'une coloration dite coloration de Gram (du nom du médecin qui l'a découverte) que l'on parvient à différencier ces bactéries, elles seront alors soit Gram positives ou Gram négatives. Structuellement c'est l'épaisseur du peptidoglycane qui permet ce classement : si le peptidoglycane est épais et riche, il s'agit d'une bactérie Gram +, s'il est fin et composé en majorité de lipide, nous sommes chez une bactérie Gram – [34].

**Gram + :**

Le peptidoglycane est un polymère complexe formé de 3 éléments différents (figure11). Tout d'abord, une épine dorsale faite d'une alternance de molécules de N- acétylglucosamine (G) et d'acide N-acétylmuramique (M). Il y aura alternance de G et M, reliés par liaison osidique. Cette épine dorsale ne varie pas d'une espèce à l'autre. Pour relier ces structures entre elles, la paroi est constituée également d'un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, composées de 4 acides aminés (L Alanine, D Glutamate, L Lysine et D Alanine) et attachées à l'acide N-acétylmuramique. En réalité il s'agit d'un penta peptide qui perd son dernier acide aminé (D Alanine) lors de la transpeptidation. Afin de relier les pentapeptides entre eux, un ensemble de « ponts inter peptidiques » composés de 5 glycines permet la liaison.

Il s'agit d'un système tridimensionnel rigide qui forme la paroi bactérienne.



**Figure 14: Représentation du peptidoglycane de la paroi bactérienne...[27].**

Chez les bactéries Gram +, il y a de nombreuses couches de peptidoglycane qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage (10 à 50 % du poids sec de la paroi) d'acides teichoïques (polymères du glycérol ou du rabiote phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie. Certain de ces acides teichoïques, les acides lipoteichoïques, sont placés transversalement et s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique. En général, il n'y a pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif [39].

**Gram – :**

Chez les bactéries à Gram négatif, il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne. Mais des polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi, ce sont les lipoprotéines formant une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide (LPS). Les lipoprotéines sont le

lien entre le peptidoglycane et la « membrane externe », elles ont en effet dans leur structure un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le térapeptide des chaînes latérales du peptidoglycane [40].

La « membrane externe » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle les phospholipides de la couche la plus externe peuvent être remplacés par des molécules de lipopolysaccharide. Au sein de cette « membrane externe », se trouvent associées au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe (exemple : OMP-A) ; d'autres appelées « porines », permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques ( $\beta$ -lactamines, tétracyclines, quinolones...) [40]. Sur le plan immunologique, le LPS constitue l'antigène O des bactéries à Gram négatif. Le LPS est un lipide complexe auquel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la spécificité antigénique de l'antigène O. Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif.

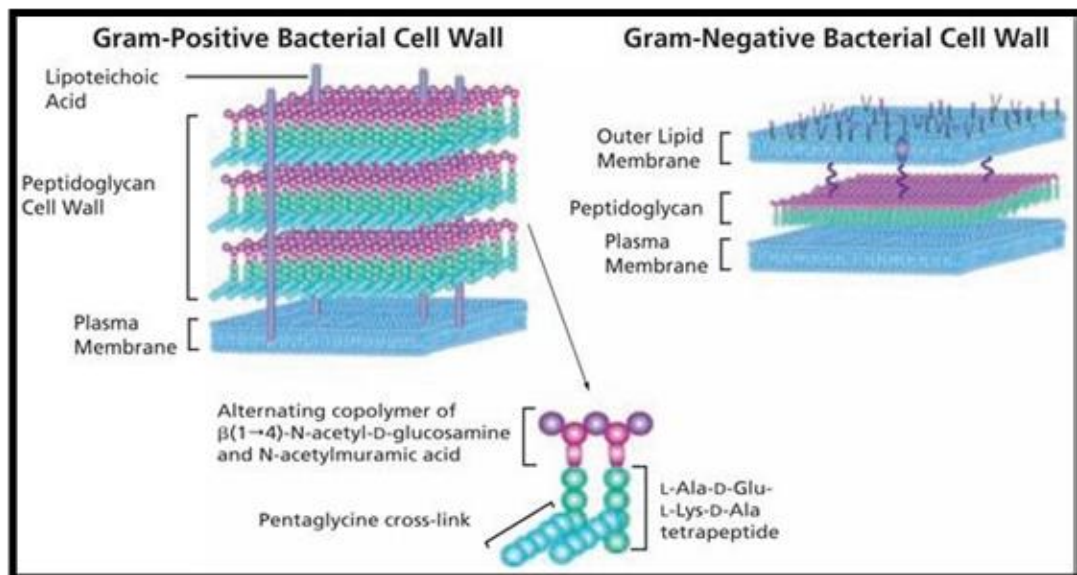


Figure 15: Comparaison entre la paroi cellulaire d'une bactérie Gram + (à gauche) et d'une bactérie Gram – (à droite)...[29].

## A/ ESCHERICHIA COLI DÉTAILLÉ :

### A.1.Historique :

En 1885 en poursuivant ses travaux sur les selles de nourrissons, l'Allemand Theodor Escherich isola pour la première fois la bactérie *E. coli*, il décida en premier lieu de lui donner le nom de *Bacterium coli* commune. Ainsi le nom *Escherichia coli* est réellement retenu 1958 sur inscription du sous-comité Enterobacteriaceae du comité de nomenclature de l'association Internationale des Sociétés de Microbiologie [41]. Entre 1920 et 1930 plusieurs études cherchaient à identifier les différentes souches d'*E. coli* incriminées dans les pathologies entériques ; mais les résultats de ces études n'étaient pas exploitables jusqu'à l'élaboration d'un plan de serotypie par KAUFFMANN en 1940.

Sur cette même lancée, dans les années 1950 plusieurs souches d'*E. Coli* ont été incriminées dans des pathologies variées chez l'Homme et chez l'animal ; notamment les diarrhées simples et les infections systémiques sévères souvent même mortelles. Ces différentes souches ont été cataloguées [42].

### **A.2 définition d'*Escherichia coli* :**

*Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle fut découverte en 1885 par Théodore Escherich.

On trouve *E. coli* de façon commensale dans la flore intestinale et fécale, tant chez les humains que chez certains animaux. La flore intestinale est colonisée peu après la naissance. La bactérie et l'hôte coexistent sans impact sur leur santé respective. Cette coexistence entraîne des bénéfices mutuels.

*E. coli* peut non seulement être une bactérie commensale, mais aussi un pathogène. La pathogénèse de ces bactéries se fait par étapes. Tout d'abord elles colonisent une muqueuse. Puis elles se multiplient et causent des dommages à l'hôte tout en essayant d'évader ses défenses [43].

On peut séparer les *E. coli* pathogènes en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC). Chacune de ces catégories contient différentes sous-catégories provoquant différents symptômes. Les *E. coli* peuvent être classées de plusieurs manières, notamment par pathotype (un groupe d'organismes de la même espèce causant les mêmes maladies) ou par groupe phylogénique. Les différents pathotypes sont regroupés selon qu'ils sont causés par des pathogènes intestinaux ou extra-intestinaux.

Il existe une grande diversité de souches d'*E. Coli*. Cette diversité ainsi que la pathogénicité des souches sont dues à l'insertion de matériel génétique, que ce soit sous forme d'îlot de pathogénicité, de transposon, de bactériophage ou de plasmide. Ce matériel génétique incorporé peut contenir des gènes impliqués dans la virulence. La diversité d'*E. coli* est aussi due à des remaniements de l'ADN de la souche. [44].

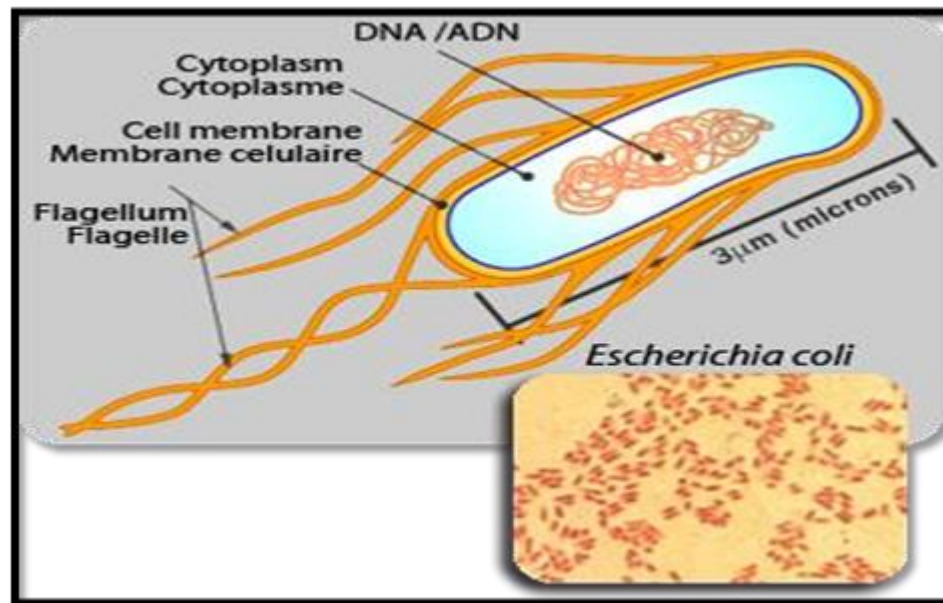


Figure 16: Schéma d'*E.coli*.....[30].

### Habitat :

#### Habitat primaire :

La bactérie *E. coli* appartient à la microflore commensale de l'Homme et de nombreux animaux. C'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) mais également des reptiles [45]. Le tractus digestif constitue son habitat primaire. La bactérie *E. coli* est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations supérieures à  $10^6$  UFC (Unité Formant Colonie)/ g de contenu intestinal [46]. Elle demeure très souvent dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique favorable pour son développement de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en nutriment [47].

#### Habitat secondaire :

La bactérie *E. coli* est rejetée dans l'environnement à travers les fèces à une concentration d'environ  $10^8$  UFC/ g de fèces. Elle se retrouve dans les eaux environnementales par le biais des effluents, tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux d'élevage ou par les déjections des animaux d'élevage ou des animaux sauvages [47]. L'environnement constitue l'habitat secondaire des *E. coli*. Il est contrairement à l'habitat primaire plutôt défavorable à leur survie [48]. Dans l'environnement, la bactérie *E. coli* est soumise à plusieurs types de pression, biotiques (prédation et compétition de flore)

[49].et abiotiques (lumière, température, oligotrophie et salinité) [50]. La population d'*E. coli* dans l'habitat secondaire se renouvelle par les apports de bactéries provenant de l'habitat primaire. Une minorité de la bactérie *E. coli* est capable de coloniser et de persister dans l'environnement hors de son hôte [51]. Cette population de la bactérie *E. coli* dite colonisatrice de l'environnement est qualifiée de population naturalisée [52]. ou de coliformes du microbiote environnemental [51].

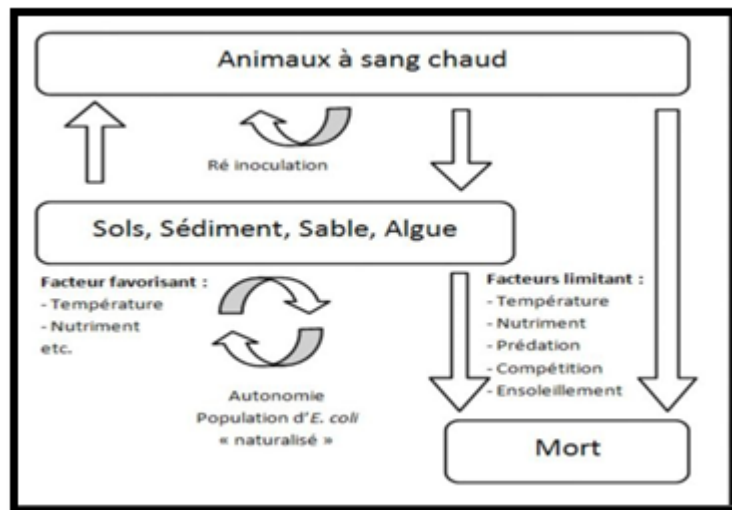


Figure 17: Cycle de vie d'*E. Coli*[32].

Ce processus d'adaptation ou de naturalisation dans l'environnement secondaire a été observé au niveau des coliformes fécaux environnementaux avec l'identification de la bactérie *E. coli* ayant développée la capacité à produire une capsule [53]. pour se protéger des agressions extérieures [54]. Pour résister à la pression exercée par le manque d'eau dans certains sols et au choc osmotique provoqué par la présence de sel en eau de mer, les souches d'*E. coli* ont développé une capacité à produire des solutés organiques de type tréhalose pour résister à la dessiccation et à la salinité [55].

Identification d'*Escherichia coli* sur les milieux nutritifs:

#### A.4.1. Caractères morphologiques et culturels :

*Escherichia coli* ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4  $\mu$  de long sur 0,4 à 0,6  $\mu$  de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémité arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe, non exigeant sur gélose ordinaire, il donne des colonies lisses, brillantes et homogènes. Sa température de croissance optimale est de 37 °C [56].

Caractères biochimiques :

*E. coli* possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. Ces caractères sont regroupés dans le (tableau 2) [56].

La plupart des souches fermentent le sorbitol en dehors du serotype O157 : H7. Ces caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des souches d'*E. coli* en dehors de certains mutants qui sont dépourvus de l'enzyme Glucuronidase. Ces caractéristiques distinctes permettent de rechercher et d'isoler les souches d'*E. coli* dans l'environnement et l'alimentation [57].

Tests	Résultats
<b>Glucose</b>	+
<b>Lactose</b>	+
<b>Hydrogène Sulfuré</b>	-
<b>Voges-Proskauer</b>	-
<b>Uréase</b>	-
<b>Indole</b>	+
<b>Citrate De Simmons</b>	-
<b>Orthonitrophenyl- β-D- Galactopyranoside</b>	+
<b>Citrate De Christensen</b>	+
<b>Arginine dihydrolase</b>	+/-
<b>Gélatinase</b>	-
<b>Malonate</b>	-
<b>Phényl-Alanine Désaminase</b>	

<b>Lysine Décarboxylase</b>	+
<b>Ornithine Décarboxylase</b>	+
<b>Tryptophane Désaminase</b>	-
<b>Nitrate Réductase</b>	+

**Tableau 2: Caractères biochimiques d'E. Coli[56].**

### Caractères moléculaires :

Du point de vue moléculaire l'identification d'*Escherichia coli* dans les échantillons est basée sur la détection de certains gènes de virulence qui sont caractéristiques des différentes souches [58, 59,60].

Les deux catégorisés de E .coli :

#### ***E. coli* pathogènes intestinaux :**

Les souches d'*E. coli* pathogènes intestinales (InPEC) peuvent être regroupées en six catégories :

- Les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC)
- Les *E. coli* entérotoxinogènes (EPEC)
- Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC)
- Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)
- Les *E. coli* enteroaggrégatives (EAEC)
- Les *E. coli* adhérentes invasives (AIEC)

#### ***a/E. coli* entérotoxinogène (ETEC) :**

Les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), fréquemment associées à la "diarrhée du voyageur", sont des souches produisant des entérotoxines : toxine thermosensible (toxines LT), et/ou toxine thermostable (toxines ST). Lors de la colonisation de l'intestin, les entérotoxines provoquent la diarrhée. Les infections aux ETECs sont principalement trouvées chez les voyageurs, les nourrissons et les enfants dans les pays en voie de développement. Elles peuvent aussi être trouvées chez les animaux d'élevage [43].

#### ***b/E. coli* entérotoxinogène (EPEC) :**

Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) provoquent, elles aussi, des diarrhées de type persistantes. Toutefois elles ne produisent pas d'entérotoxine. Ces souches sont capables de s'attacher aux cellules intestinales et de réarranger le cytosquelette. Les EPECs provoquent principalement des gastro-entérites infantiles dans les pays développés [43].

***c/E. coli* entéro-invasive (EIEC) :**

Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC) provoquent des diarrhées aqueuses et parfois la dysenterie. L'infection se fait dans la muqueuse du colon, les bactéries l'envahissent et se multiplient de façon intracellulaire. Les EIECs sont similaires à la bactérie *Shigella*[43].

***d/E. coli* entérohémorragiques (EHEC) :** sont associées aux colites hémorragiques et au syndrome urémique hémolytique (HUS) provoqués par la production de Shigatoxines (St.).

Les EHECs peuvent aussi provoquer une défaillance rénale. Les toxines inhibent la synthèse des protéines et provoquent la mort cellulaire. Les EHECs sont surtout trouvées chez les [].enfants, mais aussi dans la flore normale bovine. Les EHECs provoquent ce qu'on appelle la "maladie du hamburger" [43].

***e/E. coli* enteroaggrégative (EAEC) :**

Les *E. coli* enteroaggrégatives (EAEC) causent des diarrhées aiguës et persistantes chez les adultes et les enfants. Les EAECs sont présentes, aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. Les EAECs colonisent le colon et y sécrètent des entérotoxines et des cytotoxines [43].

***f/E. coli* adhérentes invasives (AIEC) :**

Les *E. coli* adhérentes invasives sont majoritairement associées à la maladie de Crohn. Cette maladie est responsable d'infections importantes dans l'intestin. Les AIECs sont capables d'adhérer fortement aux cellules épithéliales de l'intestin et de les envahir. Le mécanisme impliqué dans ces actions consiste en la polymérisation de microtubules et le recrutement d'actine. L'action des bactéries induit une sécrétion inflammatoire de cytokine. Les AIECs sont aussi capables de survivre et de se répliquer dans des macrophages : ce qui induit une importante sécrétion de TNF- $\alpha$  [61].

***E. coli* pathogènes extra-intestinaux :**

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), ne sont pas associés aux infections quand ces souches se trouvent dans le tractus intestinal. Cependant lorsqu'elles colonisent des tissus hors de l'intestin, elles peuvent causer des infections importantes

Les ExPECs peuvent être regroupées en quatre catégories :

- Les *E. coli* uropathogènes (UPEC),
- Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC),
- Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)
- Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC)

Les ExPECs possèdent une grande diversité de facteurs de virulence. Les ExPECs semblent avoir été créées par l'accumulation de certains facteurs de virulence dans des souches *E. coli* appartenant aux groupes phylogénétiques B2 et D [62].

### ***a/E. coli* uropathogènes (UPEC) :**

Les *E. coli* uropathogènes (UPEC) sont responsables de 80 % des infections des voies urinaires (UTI) soit environ 150 millions de personnes par an dans le monde. Les UPECs touchent particulièrement les femmes de tout âge. Environ 60 % des femmes souffrent d'une

UTI au moins une fois dans leur vie, et 25 % d'entre elles auront une récurrence. Les UTIs se produisent lorsqu'il y a contamination de la région urogénitale par la flore fécale. Les bactéries peuvent atteindre la vessie et provoquer une cystite aiguë ou infecter les reins et provoquer une pyélonéphrite aiguë. Dans certains cas les UTIs peuvent mener à une septicémie. Ces septicémies causent en moyenne 40000 morts par année aux États-Unis. Les UTIs reposent sur la présence de plusieurs facteurs de virulence. La présence ou non de ces facteurs influence la sévérité de l'UTI [43].

### ***b/E. coli* associées à la septicémie (SEPEC) :**

Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC) provoquent des septicémies.

### ***c/E. coli* à la méningite néonatale(NMEC) :**

Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés, 15 à 40 % des nouveau-nés atteints décèdent. Bon nombre des survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) [43].

### ***d/E. coli* pathogènes aviaires (APEC) :**

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) affectent les voies respiratoires de la volaille. Elles peuvent aussi causer des péricardites et des septicémies. Ces pathogènes sont responsables d'importantes pertes économiques [43].

Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence des souches *d'E.coli* responsables de certaines infections sont représentés dans le tableau 02 :

**Tableau 3: La physiopathologie d'Escherichia coli [63,64].**

Souche	Syndrome	Facteur de virulence	Rôle du facteur de virulence
EPEC (O26, O55, O86, O111, O119, O125, O126, O127, O128, O142)	Gastro-entérites infantiles aiguës ou chroniques	Entérotoxine Shiga-like	Adhésion étroite et destruction des microvillosités des entérocytes de l'intestin grêle
(O6, O8, O15, O20, O25, O63, O78, O80, O85, O115, O128, O139)	Diarrhées très Liquidiennes	Entérotoxine thermolabile Entérotoxine Thermostable	Adhésion aux entérocytes de l'intestin grêle.
EIEC (O28, O112, O124, O136, O143, 144, O147, O152)	Diarrhées Dysentérieformes	Entérotoxine Shiga-like	Invasion et multiplication dans les entérocytes du côlon
EHEC (O157 mais aussi O26 et O111)	Diarrhées sanglantes, Colites Hémorragiques	Vérottoxine	Adhésion étroite et destruction des microvillosités des entérocytes du côlon
<i>E.coli</i> K1	-Méningite néonatales	-L'antigène k1 capsulé.	-l'opposition à la phagocytose
- <i>E.coli</i> O 1, 2, 4, 6, 7, 16, 18, 75. - <i>E.coli</i> K 1, 2, 3, 12, 13.	Infections urinaires	Adhésines	-conférant aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogenèse des infections dues aux bactéries entériques

<p><i>E. coli</i> k1</p>	<p>Bactériémie</p>	<p>-des systèmes de captation du fer                  - des cytotoxines.                  -la capsule                    - les chaînes latérales du lipopolysaccharide (LPS).</p>	<p>-fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication                  -occasionnant des dégâts tissulaires, facilitent leur diffusion                    - résistance à la phagocytose                    -Action bactéricide du complément (résistance au système immunitaire).</p>
--------------------------	--------------------	---	--

Souche	Syndrome	Facteur de virulence	Rôle du facteur de virulence
EPEC (O26, O55, O86, O111, O119, O125, O126, O127, O128, O142)	Gastro-entérites infantiles aiguës ou chroniques	Entérotoxine Shiga-like	Adhésion étroite et destruction des microvillosités des entérocytes de l'intestin grêle
(O6, O8, O15, O20, O25, O63, O78, O80, O85, O115, O128, O139)	Diarrhées très Liquidiennes	Entérotoxine thermolabile Entérotoxine Thermostable	Adhésion aux entérocytes de l'intestin grêle.
EIEC (O28, O112, O124, O136, O143, 144, O147, O152)	Diarrhées Dysentérieformes	Entérotoxine Shiga-like	Invasion et multiplication dans les entérocytes du côlon
EHEC (O157 mais aussi O26 et O111)	Diarrhées sanglantes, Colites Hémorragiques	Vérottoxine	Adhésion étroite et destruction des microvillosités des entérocytes du côlon
<i>E.coli</i> K1	-Méningite néonatales	-L'antigène k1 capsulé.	-l'opposition à la phagocytose
- <i>E.coli</i> O 1, 2, 4, 6, 7, 16, 18, 75. - <i>E.coli</i> K 1, 2, 3, 12, 13.	Infections urinaires	Adhésines	-conférant aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogenèse des infections dues aux bactéries entériques
		-des systèmes de captation du fer - des cytotoxines. -la capsule - les chaînes	-fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication -occasionnant des dégâts tissulaires, facilitent leur diffusion - résistance à la phagocytose

<i>E. coli</i> k1	Bactériémie	latérales du lipopolysaccharide (LPS).	-Action bactéricide du complément (résistance au système immunitaire).
-------------------	-------------	--	--

**Les sérotypes d’Escherichia coli :**

KAUFFMANN a établi les bases du schéma d’identification par sérotypie correspondant à une combinaison de certains antigènes de surface que l’on peut mettre en évidence. La mise au point et l’utilisation de cette technique ont permis d’identifier les différentes souches pathogènes d’*E. coli*. Trois (03) antigènes de surface ont pu être étudié et retenus : les antigènes somatiques « O », capsulaires « K » et flagellaires « H ». Les souches pathogènes d’*E. coli* ont une taille supérieure à celle des souches commensales non pathogènes [41]. Cette différence s’observe au niveau du génome, le génome des souches pathogènes est caractérisé par la délétion d’un certain nombre de gènes et l’addition d’autres régions supplémentaires (traits accessoires) [65]. Les souches pathogènes d’*E. coli* possèdent environ 20 % d’information génétique supplémentaire, acquise extérieurement au cours de transferts horizontaux d’ADN [41].

□ **Antigènes somatiques O :** (lipopolysaccharide)

L’antigène somatique O détermine le sérotype. Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS permettent à la bactérie de se protéger contre l’action lytique du complément [66].

□ **Antigènes flagellaires H :** (protéine)

L’antigène flagellaire H est de nature protéique et entre en jeu dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline et il en existe plus de 56 [66].

□ **Antigènes de surface K :** (polysaccharide)

Encore appelés antigènes capsulaires ou d’enveloppe ou encore antigène Vi chez *Salmonella*, ce sont des polysides acides qui ont été initialement subdivisés en trois types à savoir : les antigènes A, B, et L. Ils masquent l’Ag O, empêchant ainsi le sérotypage lorsqu’ils sont présents [67].

Les souches les plus pathogènes possèdent l’antigène K1 [68,69].

La biologie moléculaire montre l’existence de plus de 174 sérotypes Ag O, 80 sérotypes Ag K et 56 sérotypes Ag H différents avec plus de 9 000 combinaisons possibles [70]. Malgré la diversité des génomes de la bactérie *E. coli* et les nombreuses variations dues aux phénomènes d’acquisition et de délétion de gènes, plusieurs approches moléculaires ont permis d’élaborer une signature génétique permettant de classer l’espèce *E. coli* indépendamment des notions d’*E. coli* commensal [71]. et pathogène [72].

### A.8. Traitement :

#### Traitement curatif:

Celui des infections urinaires et biliaires repose sur l'antibiothérapie et la correction des facteurs favorisants. Le traitement curatif des diarrhées aiguës à colibacilles repose surtout sur la réhydratation. Le traitement des infections péritonéales repose sur le drainage et l'antibiothérapie [73].

#### Traitement préventif:

Le traitement préventif fait surtout appel aux mesures d'hygiène générale notamment alimentaire et aux mesures d'hygiène individuelle [73].

### B/les staphylocoques :

#### Historique :

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les staphylocoques doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chrocommunitaires que nosocomiales.

#### Définition de staphylocoque :

Le **staphylocoque** est un **germe bactérien** du genre *Staphylococcus*, dont différentes souches existent. Chez l'être humain, les plus fréquentes sont le ***Staphylococcus aureus*** (ou staphylocoque doré), le *Staphylococcus epidermidis* (ou staphylocoque blanc), mais aussi le *Staphylococcus saprophyticus*. Ceux-ci peuvent être présents dans tous les environnements (eau, sol, air, aliments, objets). *"On peut trouver des staphylocoques sur notre peau, sur les muqueuses, dans le nez... sans que cela n'entraîne aucun symptôme"*, explique le Dr Tarek Msadek, chef du Département de Microbiologie de l'Institut Pasteur. *"Mais ces staphylocoques peuvent néanmoins devenir pathogènes (responsable d'une pathologie) quand ils se retrouvent dans un endroit où ils ne devraient pas être, et ils engendrent alors des infections diverses"*.

La gravité de celles-ci est définie selon le type de bactérie et l'endroit où elle se retrouve. Les deux staphylocoques les plus communs chez les hommes sont les staphylocoques dorés et blanc. *"On les distingue par leurs facteurs de virulence : le premier est le plus grave des staphylocoques, tandis que le second s'attaque surtout à l'épiderme"* précise le spécialiste [74].

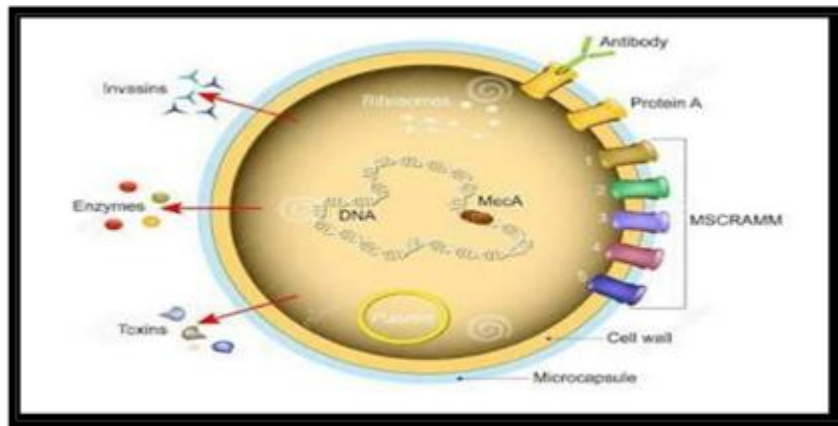


Figure 18: Structure cellulaire de staphylococcus aureus...[40].

**Staphylococcus aureus :**

**Taxonomie:**

Selon la neuvième édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif, dans le phylum des Firmicutes

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

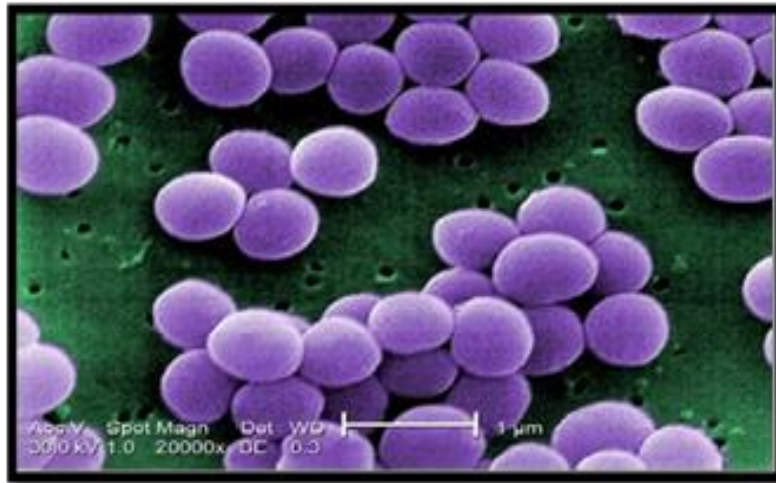
Espèce : *Staphylococcus aureus* [33,75, 76] **B.3.2. Habitat :**

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente (environ 60% qui hébergent *S. aureus* de façon intermittente) à une densité de 10<sup>3</sup> à 10<sup>4</sup> CFU/cm<sup>2</sup> [77].

**Caractères bactériologiques :**

**A/. Caractères morphologiques :**

*S.aureus* présente sous l'aspect de cocci en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1 µm, et Gram positif (Fig.16) [78]. La division cellulaire peut se faire sur plusieurs plans, ce qui donne lieu à des arrangements cellulaires variés: la division n'aboutit pas à la séparation complète des cellules filles [79]. Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf de très rares souches (souche Smith) ; d'autres souches formant des colonies mucoïdes sont entourées d'une pseudocapsule [78].



**Figure 19: Aspect de Staphylococcus aureus microscopie électronique X 20000) [41].**

### **b/. caractères cultureux :**

*S.aureus* est aérobie, anaérobie facultatif et cultive facilement sur milieu ordinaire ; certains facteurs de croissance sont indispensables (vitamine B1, acide nicotinique) ; Il pousse en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et quatorze amino-acides dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique [78]. La température de croissance optimale est de 37°C (mésophile), il peut croître aussi à 6-12°C (psychrophile). Le pH optimal est de 7,5 (neutrophile) mais de grandes variations sont tolérées [75].

En bouillon ordinaire, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide. Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées et leur diamètre est de 1mm ; la plupart des souches produisent un pigment doré non diffusible dans le milieu [78]. Après culture de 24 heures sur gélose au sang, les colonies qu'ils produisent sont de plus grand diamètre que celles produites sur gélose nutritif. Ainsi, une pigmentation peut être observée où la couleur varie selon l'espèce, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce [79].

Le pigment non diffusible produit par cette bactérie, soluble dans les solvants des graisses, est de nature caroténoïde et comporte un mélange d'au moins sept constituants, son rôle physiologique n'est pas bien connu. Les souches productrices ont, en général, un métabolisme très actif et une diffusibilité épidémique grande, l'absence de production est souvent associée à d'autres caractères (groupes phagiques et antigéniques) [78].

*S.aureus* tolère le sel et pousse dans un milieu contenant 75% de NaCl (milieu de Chapman) qui est utilisé comme milieu sélectif (Le Minor et Véron., 1984); Sur ce milieu, les colonies sont souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune, la plupart des souches de *S. aureus* fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé [79].

Par contre, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le staphylocoque, le milieu de

Baird Parker est utilisé. Il est à base de tellurite comme agent sélecteur, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'oeuf [76].

**c/.Caractères physiologiques et biochimiques :**

*Staphylococcus aureus* possède une catalase mais pas d'oxydase. Ils sont actifs sur les hydrates de carbone : le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le

mannitol. L'utilisation de ces deux sucres caractérise l'espèce *S. aureus*. D'autres caractères peuvent être recherchés : indole(-), acétoine(+), uréase(+), réduction du tellurite de potassium, des nitrates en nitrites, production d'ammoniaque à partir de l'arginine [75].

Pouvoir pathogène :

*Staphylococcus aureus* comporte deux sous espèces :

- *S.aureus subsp.anaerobius* : bactérie à catalase (-) et pathogène pour l'animal.

*S.aureus subsp.aureus* : bactérie pathogène par virulence (elle fabrique des protéines de surface et des enzymes dont la coagulase libre et la thermonucléase) et par toxinogénèse (elle produit diverses toxines, dont des entérotoxines de différents types antigéniques : A à F). *Staphylococcus aureus*, espèce de *Staphylococcus* à coagulase positive, est fréquemment rencontré chez l'homme. Il peut être responsable d'infections cutanées (impétigo, furoncles...), d'infections de la sphère ORL (sinusites, otites...), d'infections diverses et d'infections septicémiques redoutables, d'infections nosocomiales, et d'intoxication alimentaires individuelles ou collectives (TIAC) [76].

Facteurs de virulences :

La pathogénicité de *S.aureus* est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence.

En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes. Quelques exemples de ces facteurs sont résumés dans le tableau 3 :

**Tableau 4: Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* [75].**

	Facteurs	Gènes	fonctions
	<b>Clumping factor A</b>	<b>clfA</b>	<b>Adhésion au fibrinogène</b>
	<b>Clumping factor B</b>	<b>clfB</b>	<b>Adhésion au fibrinogène</b>

<b>Constituants de laparoi cellulaire</b>	<b>Coagulase</b>	<b>Coa</b>	<b>Liaison au fibrinogène</b>
	<b>Protéine Fib A</b>	<b>fibA</b>	<b>Liaison au fibrinogène</b>
	<b>Fibronéctine liée à la protéine A</b>	<b>fnbA</b>	<b>Attachement à la fibronéctin e</b>
	<b>Fibronéctine liée à la protéine B</b>	<b>fnbB</b>	<b>Attachement à la fibronéctin e</b>
	<b>Collagène lié à la protéine</b>	<b>Cna</b>	<b>Adhésion au collagène</b>
	<b>Elastine liée à la protéine</b>	<b>Ebps</b>	<b>Liaison à l'élastine</b>
	<b>Protéine analogue MHC</b>	<b>Map ou eap</b>	<b>Liaison à la protéine de lamatrice extracellulaire (incluant fibronéctine ,</b>
			<b>fibrinogène vitronectine , sialoprotéine osseuse et thrombospondine).</b>
	<b>Adhésine intracellulaire polysaccharidi que</b>	<b>Pla</b>	<b>Adhésion intracellulaire et formation de biofilm</b>
	<b>Protéine A</b>	<b>Spa</b>	<b>Invasion possible des défenses de</b>

		<b>l'hôte</b>
<b>Polysaccharides capsulaire (type 1,5 et 8)</b>	<b>Cap</b>	<b>Molécule Anti-phagocyte</b>
<b>Entérotoxines A-E.H</b>	<b>Sea-e,h</b>	<b>Invasion des défenses del'hôte avec des superantigènes , responsables des diarrhéesassociées à la nourriture</b>
<b>Syndrome du choctoxique toxine -1</b>	<b>Tst</b>	<b>Invasion des défenses del'hôte avec des superantigènes responsables de TSS</b>
<b>Toxine exfoliativeA ,B</b>	<b>Eta ,etb</b>	<b>Invasion des défenses del'hote , agents responsables du syndromede la peau ébouillantée</b>
<b>Lipase</b>	<b>Geh</b>	<b>Invasion des défenses del'hôte</b>
<b>Protéase V8</b>	<b>Sas P ou ssp</b>	<b>Invasion des tissus et modification des protéinesde surface</b>
<b>Leucocidine de Panton-Valentine</b>	<b>lukF,lukS</b>	<b>Invasion des défenses de l'hôte ,lyse des phagocytes de l'hôte</b>

	<b>Staphylokinase</b>	<b>Sak</b>	<b>Invasion des défenses del'hôte</b>
	<b>Hemolysine -a</b>	<b>Hla</b>	<b>Invasion des tissus , à partir des pores dans les membranes des cellules del'hôte</b>
	<b>Beta - hemolysine</b>	<b>Hlb</b>	<b>Tissue invasion ,sphingomyclinase</b>
	<b>Sigma-hemolysine</b>	<b>Hld</b>	<b>Potentialisation de la beta -hemolysine</b>
	<b>Gamma-hemolysine</b>	<b>Hla A,B,C</b>	<b>Potentialisation de la lyse des cellules de l'hôte</b>
	<b>Phospholipase C</b>	<b>Plc</b>	<b>Lyse cellulaire</b>
	<b>Elastase</b>	<b>sep A</b>	<b>Invasion des tissus</b>
	<b>Hyaluronidase</b>	<b>hys A</b>	<b>Invasion des tissus</b>

**Traitement :**

Sont requises pour limiter la dissémination de ces bactéries. Aujourd'hui, l'antibiothérapie. En milieu hospitalier, des mesures draconiennes d'hygiène et d'isolement des patients reste le traitement de choix, surtout dans les phases précoces de l'infection. Cependant, l'émergence récente de souches résistantes à la vancomycine laisse entrevoir une impasse thérapeutique, mais des approches vaccinales sont actuellement à l'étude [78].

**Prophylaxie :**

**Prophylaxie individuelle :**

Le portage sein ne constitue pas un danger sérieux pour le sujet ; en revanche un sujet atteint

de furonculose chronique doit être traité et le portage nasal pris en considération. La

prophylaxie de la septicémie chez un sujet porteur de lésions staphylococcique évolutive est essentielle. L'utilisation de vaccins cellulaires inactivés et d'anatoxine a été préconisée, mais les résultats sont incertains [78].

□ Prophylaxie collective :

La surveillance et le contrôle de ces infections sont basés sur les mesures principales suivantes:

suppression des infections croisées, éducation du personnel, retour au aspect absolu des règles relative à l'asepsie et à l'antisepsie, rationalisation de l'emploi des antibiotiques à titre curatif et préventif [78].



**Figure 20: l'antibiothérapie des infections à staphylocoques....[46].**



# **Chapitre 03:**

## **Les antibiogrammes**

**I. Introduction.**

La lecture d'un antibiogramme est semée d'embûches qu'il faut savoir reconnaître avant de prescrire un antibiotique. Avec l'augmentation croissante de bactéries résistantes aux agents anti-infectieux, l'antibiogramme est devenu un outil indispensable dans le choix judicieux de l'antibiotique. Il existe une résistance naturelle et une résistance acquise aux antibiotiques. Par exemple *Escherichia coli* est naturellement résistant aux macrolides alors que la résistance de *Streptococcus pyogenes* aux macrolides peut être acquise. Les résistances naturelles ne posent pas de problème au médecin car elles sont définies et bien connues. En revanche, le développement de résistances acquises des bactéries pose un problème en raison du principe d'incertitude qu'elles introduisent dans l'efficacité de la prescription empirique d'un antibiotique et de l'impasse thérapeutique qui peut en résulter. Cet article passe en revue les principes de l'établissement d'un antibiogramme ainsi que les pièges à éviter dans sa lecture et son interprétation. Quelques exemples devraient permettre au clinicien de se familiariser avec le choix d'un antibiotique après avoir pris connaissance des résultats d'un antibiogramme. Il faut en effet se souvenir que l'antibiogramme nous donne des informations établies in-vitro qui ne sont parfois pas transposables in-vivo [80].

**II. Techniques des Antibiogramme.**

La détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est une tâche délicate pour le laboratoire.

L'information doit être correcte, précise et reproductible. C'est pourquoi la grande majorité des laboratoires suisses ont opté pour les normes américaines du National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS). En plus d'un suivi de l'évolution scientifique sur le plan clinique et de laboratoire, cette norme permet d'effectuer des tests standardisés dont les résultats sont comparables avec ceux d'autres laboratoires utilisant la même norme.

Sur le plan technique, il existe plusieurs manières de faire un antibiogramme. À part les techniques automatisées basées sur les critères de la NCCLS et proposées par différents fabricants, le test de diffusion et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sont les méthodes les plus fréquemment utilisées. Pour des situations cliniques particulières comme, par exemple, l'endocardite, la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) peut être envisagée. Le test de diffusion ne requiert pas de techniques de laboratoires sophistiquées mais peut se faire dans tous les laboratoires de microbiologie clinique (figure 1). Ce test est standardisé et mis à jour annuellement par la NCCLS par la publication de documents actualisés contenant les critères d'interprétation. Avant l'introduction de l'E-test, la détermination de la CMI était une technique ardue et laborieuse. Elle se faisait en bouillon, voire en gélose, en demandant un important temps de préparation. La méthode du E-test se sert d'une bandelette imprégnée d'un gradient de concentration d'antibiotique. Ce dernier induit une zone d'inhibition sous forme de goutte autour

de la bandelette.

La CMI est lisible directement sur l'échelle à l'intersection entre la croissance bactérienne et la bandelette. Techniquement, cette méthode se distingue peu de la méthode de diffusion et peut être réalisée dans des laboratoires non spécialisés.

Il est clair que la valeur prédictive de l'antibiogramme par rapport au succès thérapeutique n'est que relative. Il existe de nombreuses nuances faisant de l'antibiogramme un instrument indicatif pour le choix thérapeutique judicieux. Un microorganisme sensible chez un patient immunocompétent et résistant chez un patient immunocompromis donne une excellente valeur prédictive pour le succès et l'échec thérapeutique respectivement [80].

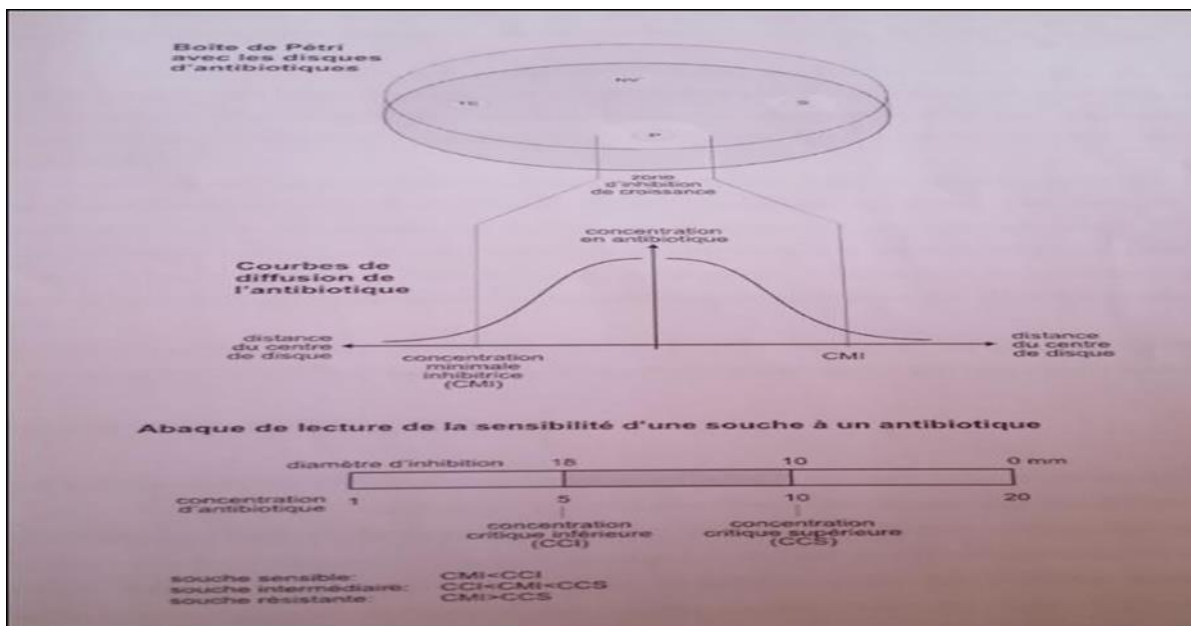


Figure 21: Test de diffusion d'un antibiotique : détermination de l'efficacité des substances antimicrobienne [49].

## 1. Choix de l'antibiotique.

### Résistances naturelles et acquises des bactéries.

Le développement de résistances aux antibiotiques n'est pas identique chez toutes les bactéries comme il n'est pas identique non plus pour une même bactérie, face à tous les antibiotiques. A titre d'exemple, chez les staphylococcus aureus les genes erm A et erm C confèrent une résistance aux macrolides a 14 ou 15 atomes ;mais pas aux macrolides a 16 atomes en raison de leurs différence de structure et de conformation .

Le taux de résistance peut varier significativement d'un pays à l'autre, en liaison sans doute avec les habitudes de prescription et la compliance des patients: en france par exemple, plus de 57,5% des Pneumocoques sont résistants à l'érythromycine .

Le taux de résistance de pneumocoque a la pénicilline G aux debut des annees 2000 est très élevé

comme en France en 2001 ( 55,4 %) en Espagne en 2000 (50%) aux Etat Unis en 2000 (34%)

L'apparition de nouveaux antibiotiques, souvent découverts et introduits en raison des résistances bactériennes, provoque une large prescription et, inévitablement, la survenue de nouvelles résistances.

Le spectre de l'antibiotique choisi devrait idéalement être le plus restreint possible en raison du risque de développement de résistance de la flore normale. Il est recommandé de traiter par exemple une colite à *Clostridium difficile* par du métronidazole et non par la vancomycine, pourtant aussi efficace que le métronidazole, car celle-ci sélectionne des entérocoques résistants à la vancomycine qui peuvent être présents dans le tube digestif du patient. Bien entendu, la compliance du patient va également jouer un rôle important dans la survenue de résistances. La résistance par mutations est plus fréquente vis-à-vis de certains antibiotiques comme les fluoroquinolones, la rifampicine et l'acide fusidique par exemple. On doit en tenir compte pour le traitement des infections à fort inoculum ou le traitement des infections de corps étranger [80].

### **Lecture de l'antibiogramme.**

La lecture d'un antibiogramme doit être systématique au même titre que celle d'un Electrocardiogramme par exemple. On commence par regarder le résultat du gram qui figure habituellement au début du rapport microbiologique. Celui-ci nous permet parfois de faire la différence entre une infection et une simple colonisation sans conséquence. Prenons l'exemple d'un mal perforant plantaire chez un diabétique dont l'écoulement purulent met en évidence deux *Staphylococcus epidermidis* avec de multiples résistances (méthicilline, fluoroquinolones). Sans prendre connaissance du Gram, le praticien non averti va être tenté de prescrire le seul antibiotique efficace sur les deux *Staphylococcus epidermidis*, soit la vancomycine (traitement cher, nécessitant une administration intraveineuse). Le Gram montre en effet que ces deux bactéries ne sont pas visibles à l'examen direct et ne poussent qu'en très faible quantité, ce qui permet de penser qu'il s'agit simplement d'une colonisation normale qu'il ne faut bien entendu pas traiter [84].

Il faudrait plutôt tenter d'obtenir un prélèvement plus profond (osseux si une ostéomyélite est confirmée) afin de diriger l'antibiothérapie contre les bactéries en cause. Lorsque plusieurs microorganismes sont cultivés à partir d'un site normalement stérile (urine, sang, liquide céphalo-rachidien) et considéré comme infectieux, le choix de l'antibiotique peut être compliqué par l'impossibilité apparente d'utiliser une monothérapie comme le montre l'exemple ci-dessous. Un patient de 82 ans, opéré il y a 3 semaines pour une hyperplasie de la prostate, se plaint d'une dysurie, d'une pollakiurie et d'une douleur du périnée en position assise. Il est fébrile à 38,2 °C. L'examen des urines révèle une importante leucocyturie ainsi que la présence de nitrites. Le diagnostic de probable prostatite ou de pyélonéphrite est posé. Les résultats microbiologiques sont relevés dans le tableau 2.

Le choix d'un antibiotique efficace contre les 3 microorganismes cultivés serait facilité si toutes les cases du tableau étaient remplies ; or seuls deux antibiotiques ont été testés pour l'entérocoque par exemple. Il ne s'agit pas d'un oubli du laboratoire de microbiologie mais d'une habitude. Les antibiotiques auxquels l'entérocoque est naturellement résistant (quinolones, cépha- losporines) ne sont bien entendu pas testés, et de ce fait, pas retranscrit dans le tableau, car le laboratoire estime que les praticiens connaissent ces résistances. L'*Escherichia coli* est, lui, naturellement résistant aux macrolides (érythromycine), à la clindamycine, à la pénicilline et aux glycopeptides (vancomycine). Pour d'autres familles d'antibiotiques, on ne teste qu'un antibiotique de base et, en cas de sensibilité, on extrapole ces résultats aux autres membres de la même famille. L'entérocoque est sensible à l'ampicilline (famille des bêta-lacta-mines) ; il l'est donc aussi à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique et à

l'imipenem ce qui n'est pas retranscrit dans le tableau, car ces connaissances sont considérées comme acquises [83].

Fort de ces connaissances, on peut virtuellement compléter le tableau 2 et 3 et constater que seuls l'association amoxicilline + acide clavulanique ou l'imipenem pourraient être efficaces. En cas de possibilités multiples, on choisira de préférence le spectre antibiotique le plus étroit, ainsi dans ce cas l'amoxicilline + acide clavulanique.

### **Microorganismes résistants aux antibiotiques.**

Certaines résistances bactériennes sont discrètes et pas forcément transmises par le laboratoire de microbiologie. Prenons l'exemple d'un staphylocoque coagulase négatif résistant à l'érythromycine et sensible à la clindamycine. La prescription de ce dernier pourrait aboutir [80].

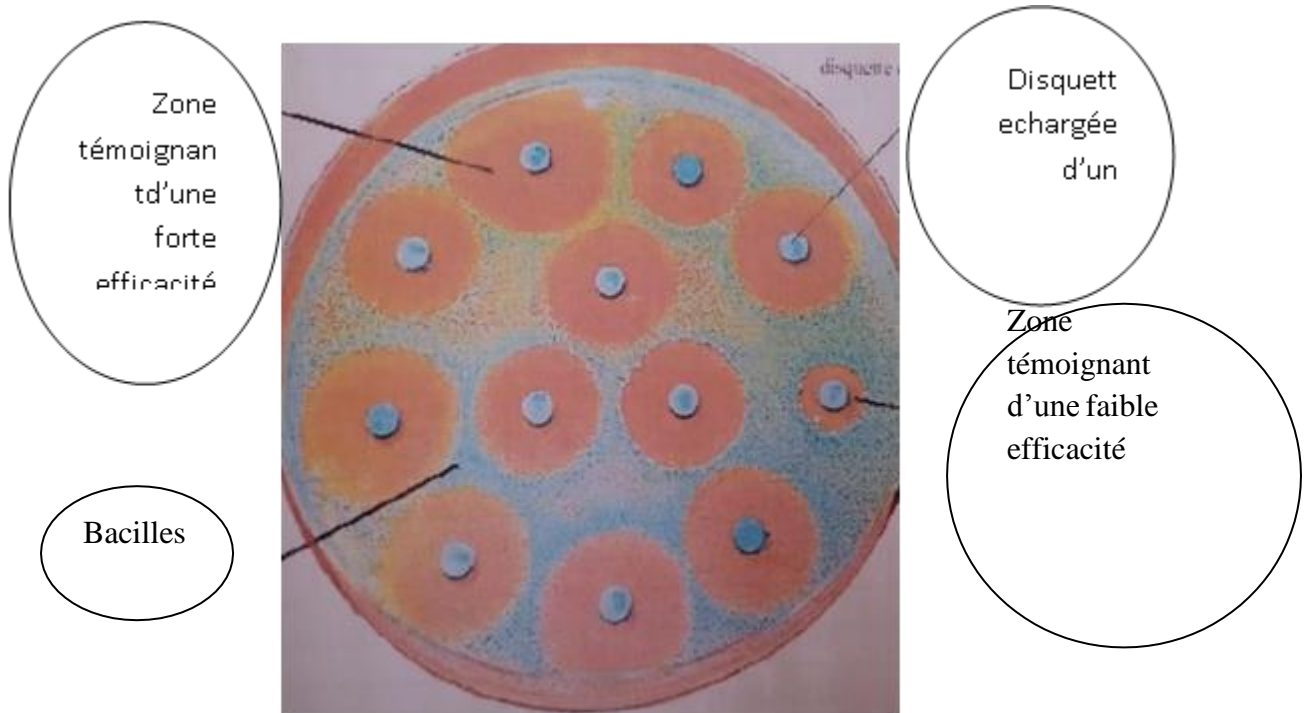


Figure 22: Un antibiogramme ...[52].

Tableau 5: Résultats microbiologiques.

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant.

	Enterococcus faecalis	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
Amikacine	R	S	R
Amoxicilline/Clavulanate	S	S	S
Ampicilline	S	S	R
Céfalotine	R	S	S
Ceftriaxone	R	S	S
Ciprofloxacine	R	S	S
Clindamycine	R	R	S
Co-trimoxazole	R	S	S
Erythromycine	R	R	S
Gentamicine	R	S	S

<b>Imipenem</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>Norfloxacine</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>Ofloxacine</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>Oxacilline</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Pénicilline</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
<b>Vancomycine</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>

**Tableau 6: Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes ± 1 écart-type calculés 400 tests).**

<b>Antibiotique</b>	<b>Charge</b>	<b>Escherichia coli</b>	<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>Providencia stuartii</b>
	<b>Du disque</b>	<b>CIP 7624</b>	<b>CIP 76110</b>	<b>CIP 7625</b>	<b>CIP 107808</b>
<b>Pénicilline G</b>	<b>6 µg (10 UI)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>31,0 - 38</b>	<b>-</b>

					, 5
<b>Oxacilline</b>	<b>5 µg</b>	-	-		2 7 , 0  -  3 4 , 0
<b>Amoxicilline</b>	<b>25 µg</b>	<b>22,0 - 26,5</b>	-	-	<b>6,0 - 7,0</b>
<b>Amoxicilline /ac. clavulanique</b>	<b>20/10 µg</b>	<b>22,0 - 27,0</b>	-	-	<b>6,0 - 8,0</b>
<b>Ticarcilline</b>	<b>75 µg</b>	-	<b>25,0 - 30,5</b>	-	-
<b>Pipéracilline</b>	<b>75 µg</b>	-	<b>27,5 - 32,5</b>	-	-
<b>Céfalotine</b>	<b>30 µg</b>	<b>18,0 - 23.0</b>	-	-	<b>6,0 - 6,5</b>
<b>Céfotaxime</b>	<b>30 µg</b>	<b>32,5 - 37,7</b>	-	-	<b>25,0 -  32 ,0</b>
<b>Ceftazidime</b>	<b>30 µg</b>	-	<b>25,5 - 31,5</b>	-	-
<b>Imipénème</b>	<b>10 µg</b>	-	<b>24,5 - 29 ,5</b>	-	-

<b>Gentamicine</b>	<b>15µ g (10 UI)</b>	<b>22,0 - 26,5</b>	<b>15,5 - 22,5</b>	<b>24,0 - 28,5</b>	<b>13,0 - 17,0</b>
<b>Tobramycine</b>	<b>10 µg</b>	<b>-</b>	<b>20,5 - 26,5</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Amikacine</b>	<b>30 µg</b>	<b>21,5 - 26,0</b>	<b>20,0 - 26,0</b>	<b>-</b>	<b>24,5 - 29,0</b>
<b>Acide nalidixi que</b>	<b>30 µg</b>	<b>25,5 - 30,5</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Péfloxacine</b>	<b>5 µg</b>	<b>29,0 - 35,5</b>	<b>-</b>	<b>25,5 - 29,5</b>	<b>6,0 - 7,5</b>
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>5 µg</b>	<b>31,0 - 38,0</b>	<b>29,0 - 36,5</b>	<b>-</b>	<b>17,5 - 22,5</b>
<b>Ciméthoprine / Sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)</b>	<b>1,25/23, 75 µg</b>	<b>25,5 - 30,5</b>	<b>-</b>	<b>28,0 - 32,5</b>	<b>-</b>
<b>Erythromycine</b>	<b>15 UI</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>26,0 - 31,5</b>	<b>-</b>
<b>Lincomycine</b>	<b>15 µg</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>24,5 - 29,5</b>	<b>-</b>
<b>Pristinamycine</b>	<b>15 µg</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>26,5 - 32,0</b>	<b>-</b>

<b>Rifampicine</b>	<b>30 µg</b>	-	-	<b>34,0 - 39,0</b>	-
<b>Acide fusidique</b>	<b>10 µg</b>	-	-	<b>28 ,5 - 34,5</b>	-

<b>Fosfomycine</b>	<b>50 µg</b>	-		<b>24,0 - 35,0</b>	-
<b>Colistine</b>	<b>50 µg</b>	-	<b>17,0 - 22,0</b>	-	-
<b>Vancomycine</b>	<b>30 µg</b>	-	-	<b>17,5 - 20,5</b>	-



# **Partie expérimentale**

# Chapitre 04:

## Méthode et matériel



### I. Méthode et matériel.

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche de l'université ABBES LAGHROR de KHENCHELA. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'obtention du Diplôme Master en biochimie appliquée. L'objectif de ce travail est de montrer la présence ou non d'une résistance bactérienne (staphylocoque blanc ; escherichia coli et staphylocoque coagulase négative) aux antibiotiques de la famille des macrolides en réalisant des antibiogrammes .

#### Matériel :

Souches bactérienne de type Staphylocoque Blanc et Coagulase Négative

Souche bactérienne de type Escherichia coli

Antibiotique de la famille des macrolides : Spiramycine 1,5M.UI Et Roxithromycine HUP 150mg

#### Matériel de laboratoire.

Plusieurs réactifs chimique et verreries ont été utilisés pour nos études de l'activité antibactérienne .

- **Réactifs chimique** : L'eau distillée, milieu muler hilton
- **Verreries** : ,Béchers ,Balance électrique , ,Pipette pasteur ou micropipette ,Boîte de pétri en verre , Ecouvillon stérile ,



Un bécher



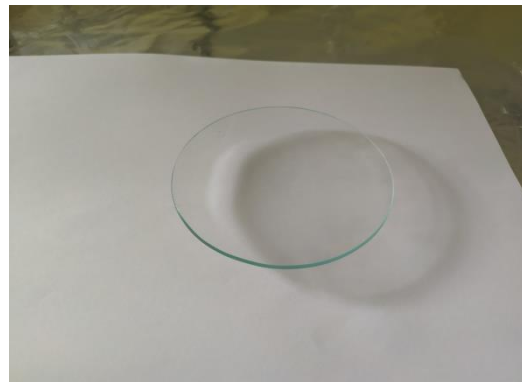
Un mortier et pilon



Une balance électrique



La spatule



Un verre de montre



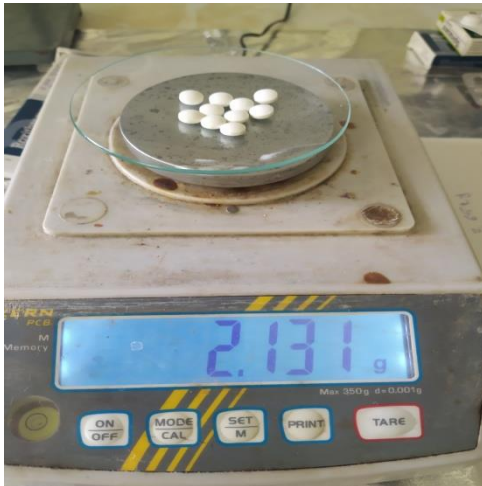
spiramycine



Roxithromycine

Mode opératoire :

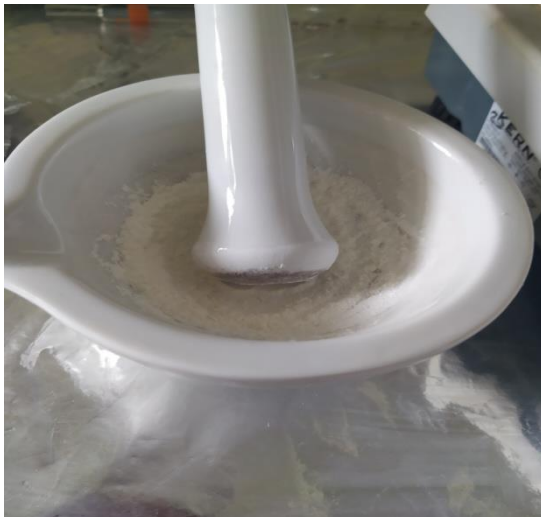
1- on a choisie 2 antibiotiques de la famille des Macrolides plus spécialement des Spiramycine et Roxithromycine qui ont probablement des propriétés chimiques et pharmaceutiques différentes Ces antibiotiques se présentent sous forme de comprimé (pour la voix orale), alors on a fait un broyage de 2,652g de Spiramycine et 2,131g de Roxithromycine dans un mortier-pilon a fin de les réduire a l'état poudre puis sont dilués dans de l'eau distillée jusqu' a 100ml a fin de faire une répartition homogène et vaincre le gradient de concentration



1- On a pesé la Roxithromycine



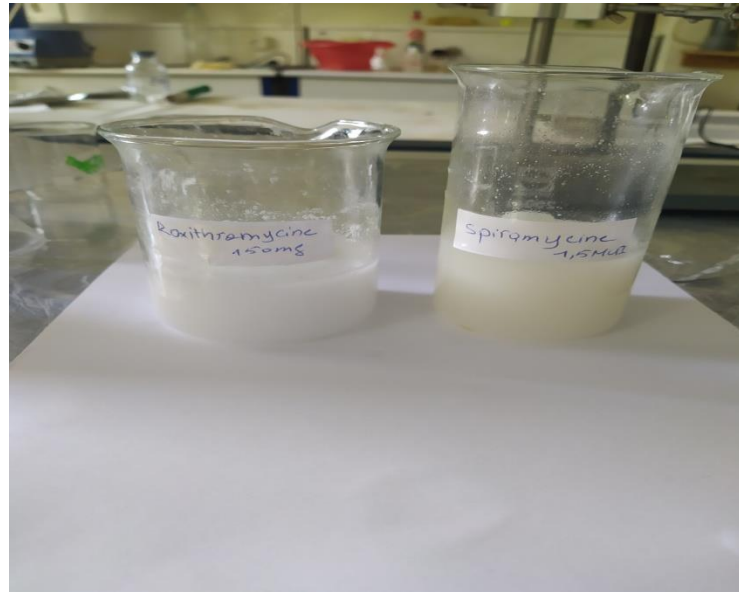
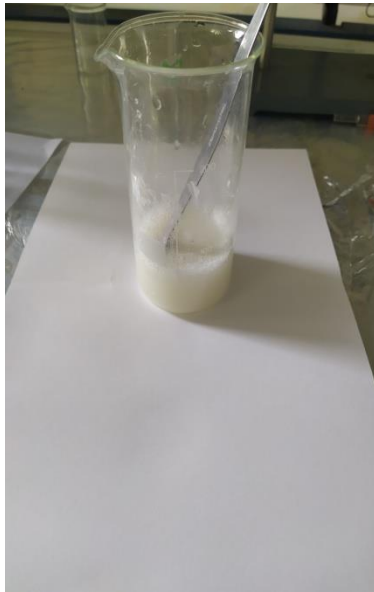
2- On a pesé la Spiramycine



3-On a broyé manuellement les deux antibiotiques séparément



4-On les a mis dans deux béchers avec une spatule



**5-On a dilué les antibiotiques en poudre avec l'eau distillée jusqu'à 100ml**

2- Au niveau du laboratoire de bactériologie on a préparé dans des boites pétri le milieu de Cultures ( Muller Hilton) puis on a récupéré des souches de plusieurs sources de staphylocoque blanc , staphylocoque coagulase négative et Escherichia coli qui se sont développées dans un milieu physiologique (isotonique concentration en Na Cl 9 gramme par litre).



**6 - On stérilisé l'anse de platine  
à la flamme du bec bunsen**

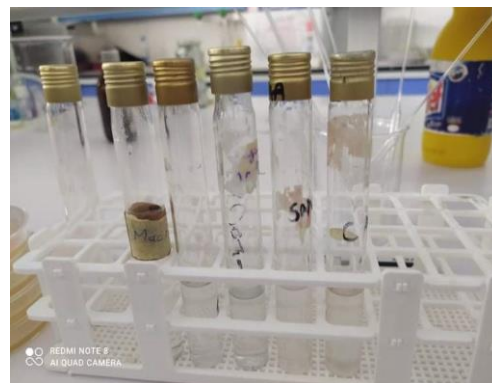
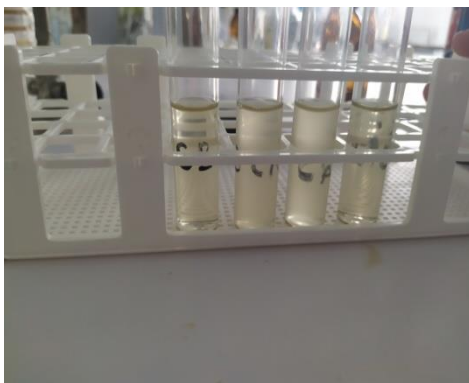


**7 –on a prélevé les bactérie par  
frottement**

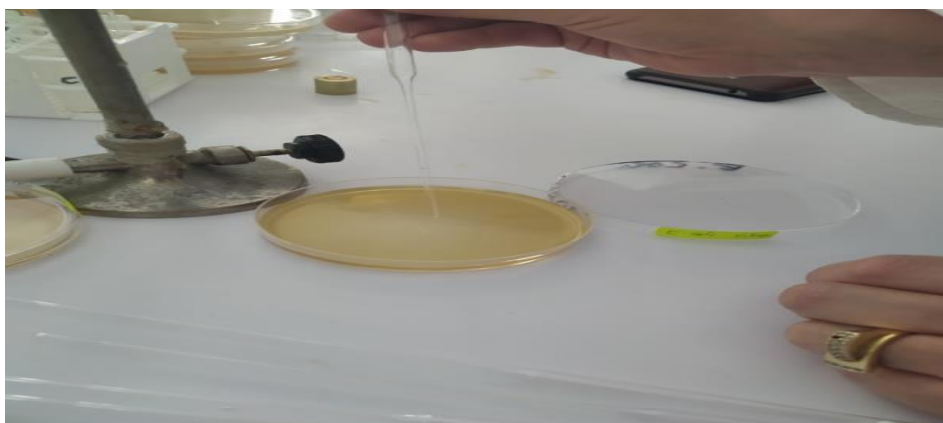


**8-L'anse est immergée dans 9ml de l'eau physiologique**

3-Après ceux-là une fois les souches activées on a procédé à des ensemencements sur le milieu de culture ; a l aide d'une micropipette ou un écouvillon stérile



**9- Les bactéries activées**



**10- Ensemencement à l'aide d'une micropipette**



### 11- Ensemencement a l'aide d'un écouvillon



3-Nous avons déposé les disques de walkman dans la solution de l'antibiotique diluée et après un égouttage bien fait nous avons placé les différentes pastilles d'antibiotiques préparées. Après on laisse les souches se développer dans les milieux appropriés dans une étuve incubatrice à une température de 37 °C en présence du CO<sub>2</sub> pendant 18 à 24 heures.



**12-On a stérilisé la pince à la flamme du  
Bec bunsen**



**13-On a pris les disques de walkman**



**14-On les a immergé dans la solution de  
L'antibiotique diluée**



**15-Après égouttage nous avons placé  
les pastilles des antibiotiques dans  
Les boîtes pétris**



### 16-On a mis les boîtes pétri dans une étuve

Après on laisse les souches se développer dans les milieux appropriés dans une étuve incubatrice à une température de 37 °C en présence du CO<sub>2</sub> pendant 18 à 24 heures.



### Une étuve

Après écoulement du temps nécessaire, on a récupéré les boîtes 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 inhibition (CMI).

### Résultats :

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

1-On en déduire que pour Escherichia coli :



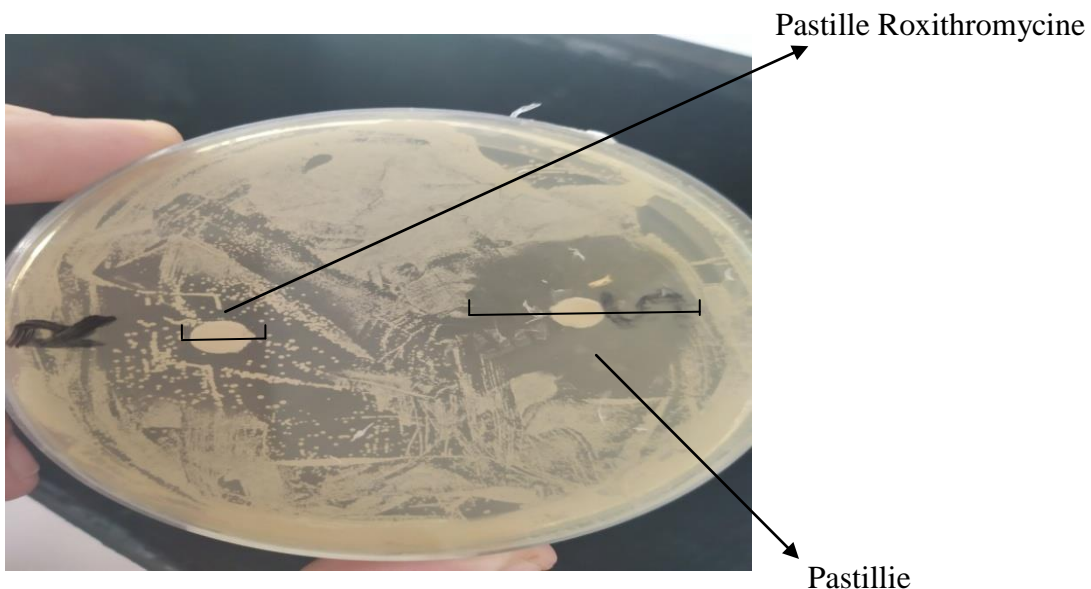
Pastille spiramycine

Lecture des ATBG en utilisant les pastilles de roxithromycine et spiramycine sur E .coli.

On en déduire que l' antibiotique Roxithromycine n'a aucun effet d' inhibition sur le développement d' Eschérichia coli et par conséquent aucune zone d' inhibition .

Par contre pour la pastille spiramycine on remarque l'apparition d' une zone d' inhibition importante de 12 ,78mm de diamètre montrant une sensibilité significative .

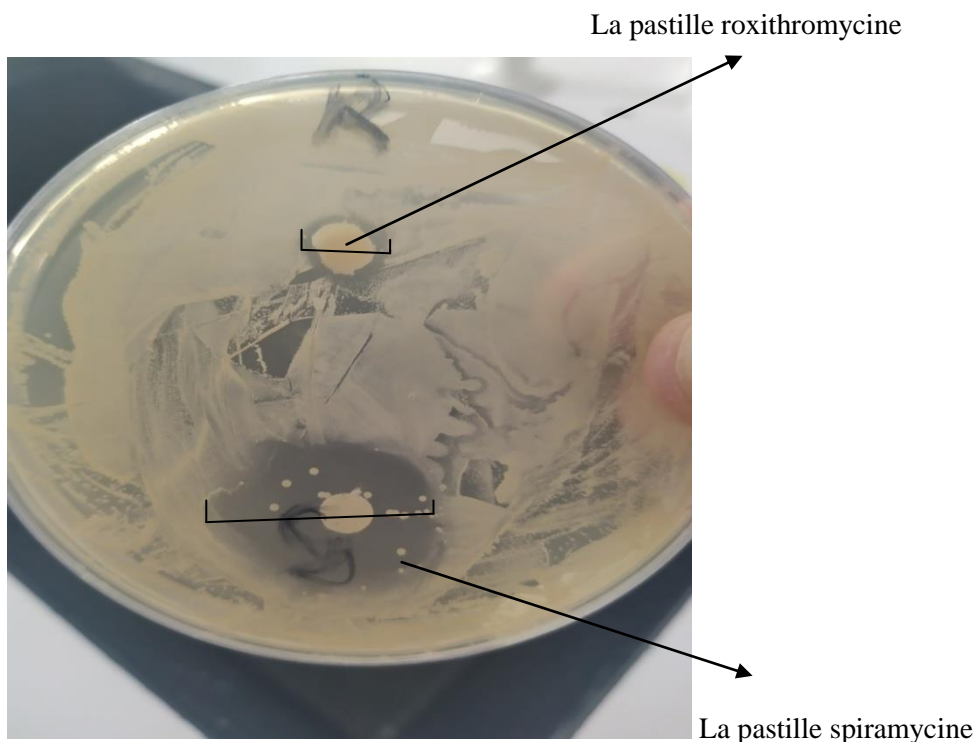
-pour le staphylocoque blanc



spiramycine

**Lecture des ATBG en utilisant les pastilles à la roxithromycine et spiramycine sur staphylocoque blanc.**

on remarque l'apparition d'une zone d' inhibition importante de 29 ,09 mm de diamètre montrant une sensibilité significative de staphylocoque blanc à la spiramycine et une petite zone d' inhibition de 11 ,48 mm de diamètre montrant une sensibilité intermédiaire de staphylocoque blanc à la Roxithromycine .

**3-pour le staphylocoque coagulase négative****Lecture des ATBG en utilisant les pastilles à la spiramycine et la Roxithromycine sur Staphylocoque coagulase négative.**

on remarque l'apparition d'une zone d' inhibition importante de 24 ,23 mm de diamètre montrant une sensibilité significative de staphylocoque coagulase négative à la spiramycine et une petite zone d' inhibitions de 11 ,21 mm de diamètre montrant une sensibilité intermédiaire de staphylocoque coagulase négative à la Roxithromycine .

**Discussion :**

Les trois bactéries E coli, Staphylocoque Blanc et Couagulase Négative sont très sensibles à la Spiramycine qui a une action significative sur ces bactéries confirmée respectivement par les diamètres des zones d'inhibitions( 12 ,78mm ; 29 ,09mm ; 24, 23mm)

B-E coli est totalement résistante à la Roxithromycine avec une absence totale de la zone d'inhibition sur l'antibiogramme .

C-Staphylocoque Blanc et Coagulase Négative présentent une sensibilité intermédiaire

à la Roxithromycine confirmée par les diamètres des zones d'inhibitions(11 ,48mm et 11 ,21mm) .

# Conclusion générale

## Conclusion générale

---

### Conclusion générale

La chimie et biologie font aujourd'hui partie de notre environnement quotidien, ces deux disciplines étant à la croisée de nombreuses industries et de nombreux secteurs, tel que la pharmacie, l'agroalimentaire, l'environnement, la biotechnologie, constituant autant de domaines dans lesquels les professionnels de la chimie et la biologie exercent leurs activités.

Le travail présenté dans ce mémoire peut être scindé en deux grandes parties qui sont la partie bibliographique, et la partie expérimentale

Dans la partie bibliographique nous avons donné des aperçus et des définitions bien détaillées sur les bactéries, les antibiotiques et les antibiogrammes

Les méthodes expérimentales constituent l'ossature de ce travail, et en particulier les techniques de préparation des pastilles menées avec rigueur selon les standards internationale.

De plus, les modèles des antibiotiques qu'on a étudié dans ce mémoire apportent une formalisation plus précise de la résistance et proposent une formalisation de l'interaction entre les bactéries et les antibiotiques. Les résultats de ces analyses renforcent l'idée que l'infection ne disparaît jamais par multi-exposition aux antibiotiques mais si on combine les avantages des antibiotiques ceux fournis par les médicaments anti-virulence, étant donné les paramètres spécifiques de l'infection, il est possible d'identifier des stratégies de traitement.



# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### Référence Bibliographique

- [1] **Regnier. B.** (1996). Les bactéries multi résistantes aux antibiotiques en réanimation : Contexte épidémiologique et stratégies de maîtrise. Pathologie et biologie. p 113-123.
- [2] **Boukhatem. L.** (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie. Université AbouBekerBelkaid Tlemcen,p10.
- [3] **Soussy. CJ.** (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P 21-46.
- [4] **Martens. E, Demain. AL.** (2017).The antibioticresistancecrisis, with a focus on the United States. J Antibiot Tokyo, p 520-526.
- [5] **Cavallo. JD, Fabre. F, Rapp. JC, Garrabé. E.** (2004). Bêta-lactamines. EMC-MaladiesInfectieuses. p 129–202.
- [6] **Yang. H, Cheng. J, Hu. L, Zhu. Y et Li. J.** (2012).Mechanisms of antimicrobialresistance inSerratiamarcescens. AfricanJournal of MicrobiologyResearch, p 4427-4437.
- [7] **Jean. L, Henry. François. D, Henri. M.** Bacteriologie Clinique. P 152.
- [8] **Le Noir. Y, Gauthier. M.**(2009). Staphylococcus aureus. Monographie de microbiologie.
- [9] **Wertheim. H, Melles. D, Vos. M, Leeuwen. W, Belkum. A, Verbrugh. H et al.** (2005).The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis. p 751–62.
- [10] **Yvon. M. (1993).**Pharmacologie moléculaire : mécanisme d'action des médiateurs et desmédicaments, ARNETTES éd. Paris France, p 24.
- [11] **TALBERT. M, WILLOQUET. G, et GERVAIS R.**(2006)Guide pharmaco,LAMARRE éd. Paris France, p 692 – 729.
- [12] **CIV.** (2012). Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les

## Références bibliographiques

---

maîtriser, de l'éleveur au consommateur. Cahier Sécurité des Aliments.

[13] **Cohen. Y.** (1997). Pharmacologie, MASSON éd. Paris France, 359-364p.

[14] **Kioub. JC.** (2002). L'usage des antibiotiques en milieu hospitalier. Thèse de doctorat. Université de Bamako, p 4-5.

[15] **PATRICK G. et DEPOVERE P.** (2003) – Chimie pharmaceutique, de boeck éd., Paris France, 375 – 431p.

[16] Antibio-dige du chu de Clermont-Ferrand et des établissements de santé de la région auvergne, p 7.

[17] <http://eurekasante.vidal.fr/medicaments/antibiotiques/familles.html>

[18] **Haouachi. R.** (2017-2018). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif productrices de Beta-Lactamase à spectre étendu ou élargi au niveau du CHU-Benbadis Constantine, p 5 -7.

[19] **Opatowski. L.** (2016). Modélisation mathématique de la dynamique de diffusion de bactéries résistantes aux antibiotiques : application au pneumocoque. Université Pierre et Marie Curie.

[20] **Neuman. M.** (1990). Vade – Mecum des antibiotiques et agent chimio thérapeutiques Anti-infectieux. Maloine 5ème éd. Paris France, p13 – 47.

[21] **Georgopapadakou. NH.** (1993). Penicillin-binding proteins and bacterial resistance  $\beta$ -lactams. Antimicrob. Agents Chemother, p 37: 2045-2053.

[22] **Kong. KF, Schneper. Land Mathee. K.** (2010). Bêta-lactam antibiotics: From antibiotic resistance.

[23] **Mascaretti. OA.** (2003). Bacteria versus antibacterial agents, an integrated approach. ASM press. p 420.

[24] **Wingard. LB, Brody. TM, Larner. J, Schwartz. A.** (1991). Human pharmacology: molecular to clinical, St. Louis, Mosby year book. To resistance and bacteriology. APMIS, p 1-36.

[25] **Kaplan. SL, Mason. EO.** (1998). Management of infections due to antibiotic-

## Références bibliographiques

---

résistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin Microbiol Rev, p. 628-44.

[26] **Courvalin. P, Leclercq. R.** (2012). AntibioGramme édition eska.

[27] **Bryskier. A, Acar. J, Clauser. Met Moreillon. Ph.**(1999). Antibiotiques : agents antibactérien et antifongiques. Edition Ellipses. Paris.

[28] **Chardon. H, Brugere. H.** (2014). Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Consulté en ligne : [www.civ-viande.org](http://www.civ-viande.org).

[29] **Penicillines. Dr. Jérôme Pacanowski** Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Saint-Antoine, GHU. Paris Est, P 21-51.

[30] **Comte. D, Petitpierre. S, Spertini. F, Bart. PA.** (2012). Allergie aux  $\beta$ -lactamines. RevMed Suisse. P 836–42.

[31] **Duciv. Dr.** (2007). Marie Célard Laboratoire de Microbiologie Hôpital Louis Pradel Lyon.

[32] **Forest. G.** (2016). Protocoles de réintroduction des beta-lactamines au CHU de Dijon : vers une harmonisation des pratiques, p : 86 - 21

[33] **Prescott. LM, Klein. DA and Harley JP.**(2010). Microbiologie 3e éd. De Boeck. Université Bruxelles, p 1088.

[34] **Vincent. Bianchi, Nicolas. D, Sarra. EA.** (2013). Bactériologie - virologie. De Boeck. (Prepa pharma).

[35] **Egan. AJF, Vollmer. W.** (2013). The physiology of bacterial cell division. Ann N Y Acad Sci, p 1277:8–28.

[36] Le microbiote intestinal : un organe à part entière. (2016). Available from: <http://www.microbiote-intestinal.fr/description-du-microbiote>

[37] **Sears. CL.** (2005). A dynamic partnership: Celebrating our gut flora. Anaerobe, p 247–51.

[38] **Cabeen. MT, Jacobs-Wagner. C.** (2005). Bacterial cell shape. Nat Rev Microbiol, p 601–10.

## Références bibliographiques

---

- [39] Université Médicale Virtuelle Francophone. Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie - Structure. (2016). Available from: [http://campus.cerimes.fr/microbiologie/enseignement/microbiologie\\_4/site/html/cours](http://campus.cerimes.fr/microbiologie/enseignement/microbiologie_4/site/html/cours).
- [40] **Salton. MRJ, Kim. KS.** (1996). Medical Microbiology. 4th edition. In: Baron S, editor. Medical Microbiology . 4th ed. Galveston (TX). University of Texas Medical Branch at Galveston. Available from: (Carbonnelle et al., 1987, Leminor et Veron., 1989 , Pilet et al., 1979)-..
- [41] **Mainil. J.** (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichiacoli: I : les adhésines et facteurs de colonisation. Ann Med Vet, P 147:105–126.
- [42] **Penit. P.** Etude épidémiologique des gastro-entérites aiguës médicalisées et spécificités chez l'enfant Thèse. Rouen. Université De Rouen; 2014.
- [43] **Kaper. JB, Nataro. JP and Mobley. HL.** (2004). Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol , p 123-140
- [44] **Ségoène. M.** (2016). Caractérisation de souches d'Escherichia coli pathogènes urinaires provenant de Guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents, p1.
- [45] **Gordon. DM, Cowling. A.** (2003). The distribution and genetic structure of Escherichiacoli in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiology, p 149(12):3575-86
- [46] **Lefebvre. P, Rigo. JM, Leprince. P, Rogister. B, Delrée. P, Hans. P, Born JD, Moonen. G.** (2018). Aggression : revue internationale de physiologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression. Disponibles sur: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE2014104070>
- [47] **Smati. M, Clermont. O, Bleibtreu. A, Fourreau. F, David. A, Daubie. AS.** (2015). Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. Microbiol Open, p 4(4):604-15.
- [48] **Darcan. C, Ozkanca. R, Idil. O, Flint. KP.** (2009). Viable but non-culturable state

## Références bibliographiques

---

(VBNC) of *Escherichia coli* related to EnvZ under the effect of pH, starvation and osmotic stress in sea water. Pol J Microbiol, p 58(4):307-17.

[49] **Pommeuy. M, Butin. M, Derrien. A, Gourmelon. M, Colwell. RR, Cormier. M.** (1996). Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. Appl Environ Microbiol, p 62(12):4621-6.

[50] **Li. L, Mendis. N, Trigui. H, Oliver. JD, Faucher. SP.** (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. Front Microbiol. P 5:258.

[51] **Walk. ST, Alm. EW, Calhoun. LM, Mladonicky. JM, Whittam. TS.**(2007). Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches. Environ Microbiol, p 9(9):2274–2288.

[52] **Ishii. S, Ksoll WB, Hicks RE, Sadowsky MJ.**(2006). Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. Appl Environ Microbiol, p 72(1) :612–621.

[53] **Power. ML, Littlefield-Wyer. J, Gordon. DM, Veal. DA, Slade. MB.** (2005). Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. Environ Microbiol, p 7(5):631–640.

[54] **Tymensen. LD, Pyrdok. F, Coles. D, Koning. W, McAllister. TA, Jokinen. CC, Dowd. SE, Neumann. NF.** (2015). Comparative accessory gene fingerprinting of surface water *Escherichia coli* reveals genetically diverse naturalized population. J Appl Microbiol, p 119(1):263–277.

[55] **Zhang. Q, Yan. T.**(2012). Correlation of intracellular trehalose concentration with desiccation resistance of soil *Escherichia coli* populations. Appl Environ Microbiol, p 78(20):7407–7413.

[56] **Oulymata. G.** (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif . Dakar : Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

[57] **Baliere. C.** (2018). Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans

l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC. Université de Bretagne Occidentale. Disponible sur: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00312/42322/>

## Références bibliographiques

---

- [58] **Omar. K, Barnard. T.** (2014). Detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in clinical and environmental water sources in South Africa using single-step 11-gene m-PCR. *World J Microbiol Biotechnol*, p 30(10):2663-71.
- [59] **Nguyen. TV, Van. PL, Huy. CL, Gia. KN, Weintraub.A.** (2005). Detection and Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* from Young Children in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol*, p 43(2):755-60.
- [60] **Vilchez. S, Reyes. D, Paniagua. M, Bucardo. F, Mollby. R, Weintraub. A.** (2009). Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Leon, Nicaragua. *J Med Microbiol*, p 58(5):630-7.
- [61] **Agus. A, Massier. S, Darfeuille-Michaud. A, Billard. E and Barnich. N.** (2014). "Understanding host-adherent-invasive *Escherichia coli* interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies.
- [62] **Johnson. JR and Russo.TA.** (2002). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* : The other bad *E coli* ". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, p 155-162
- [63] **Scheftel. JM.** (2010). Entérobactéries .1 'Alsace, p 14-17
- [64] **Djelouat. S.** (2011). Les *Escherichia coli*. Blogspot, P 1.
- [65] **Dobrindt. U.** (2018). Pathogenomics of *Escherichia coli*. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16238013>
- [66] **Payros.D.** (2012). Étude de l'effet de la colonisation des nouveau-nés par des souches de *Escherichia coli* génotoxiques sur le développement et la fonctionnalité de la barrière intestinale. Université Paul Sabatier. Toulouse.
- [67] **Diallo. AM.** (2013). *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale: prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Toulouse : Université Paul Sabatier. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2013TOU30162>.
- [68] **Kone. K.** (2017). Etude microbiologique de l'eau de boisson à Dioro : Relation entre la malnutrition et le portage d'*Escherichia coli* à travers la consommation d'eau de boisson. Bamak. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.

## Références bibliographiques

---

- [69] Organisation mondiale de la santé. Malnutrition : prévention de la malnutrition par la promotion de bonnes pratiques d'hygiène alimentaire. Module 7.P 27
- [70] **Karmali. MA, Gannon. V, Sargeant. JM.**(2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *VetMicrobiol*, p 140(3-4):360–370.
- [71] **Nataro. JP, Kaper. JB.**(1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, p 11(1):142-201.
- [72] **Guinée. P, Jansen. WH, Wadström. T, Sellwood. R.** (2018). *Escherichia coli* associated with neonatal diarrhoea in piglets and calves. In: *Laboratory Diagnosis in Neonatal Calf and Pig Diarrhoea* [Internet]. Springer, Dordrecht; 1981 [consulté 27 Mars 2018]. p. 126-62. (Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science). Disponible sur: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-8328-1\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-8328-1_18)
- [73] **Khalfoune. A.**(2014). Étude de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries d'importance clinique *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*, p 6.
- [74] **Msadek. T** .chef du Département de Microbiologie de l'Institut Pasteur.
- [75] **Rebiahi. S.** (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen, p 3-11.
- [76] **Dolarras. C.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Paris, p 289-476.
- [77] **Gras D.** (2006). Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidiques et *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne U.F.R. de médecine, p 44.
- [78] **Le Minor. L et Véron. M.**(1984). Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine-sciences. Paris, p 214- 525.
- [79] **Aouati. H.** (2009). Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de magister. Université Mentouri. Constantine, p 8-9.

## Références bibliographiques

---

- [80] **Takouachet. R, Kabouche. Z.**(2008). Analyse et contrôle des béta-lactamines par chromatographie et application sur antibiogramme, p 18 -19
- [81] a) **Patrick. GL.**(2003). « chimie pharmaceutique ». De Boeck. b) **Landry. Y ,Gies.JP.** (1990). « pharmacologie moléculaire ». Medsi /McGraw-hill. c) **Bowman. WC, Rand. MJ.**(1980). « Textbook of pharmacology » 2<sup>ème</sup> éd.Blackwell.
- [82] Le moteur de recherche des substances. En ligne sur le site du Vidal.
- [83] « La maladie du charbn ou anthrax : un exemple d'infection bactérienne ».En ligne sur le site vie (ENS – DESCO).
- [84] Thèse d'Ernest Duchesne. (1897). « Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes : antagonisme entre les moisissures et les microbes ». En ligne sur le site de la Faculté de Médecine Lyon-sud.
- [85] <https://microbiologie-clinique.com/Macrolide-lincosamine-streptogramine.html>
- [86]<https://www.vidal.fr/medicaments/substances/erythromycine-1371.html> .
- [87][https://infectiologie.org.tn/pdf\\_ppt\\_docs/cmi/college\\_monastir1/macrolides.pdf](https://infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/cmi/college_monastir1/macrolides.pdf).
- [88]<http://www.infectiologie.org.tn>.
- [89] <https://www.vidal.fr/classification> .
- [90]<https://medicament.ooreka.fr/astuce/voir/520591/macrolides>
- .

تعد الكيمياء و البيولوجيا جزءا من بيئتنا اليومية ,حيث يقع هذان التخصصان على مفترق الطرق للعديد من الصناعات والعديد من القطاعات ,مثل الصيدلة والأغذية الزراعية والبيئة والتكنولوجيا الحيوية ,وتشكل العديد من المجالات في أي المتخصصين في الكيمياء و البيولوجيا يقومون بأنشطتهم .

تشكل الطرق التجريبية العمود الفقري لهذا العمل وعلى وجه الخصوص تقنيات تحضير الحبيبات التي يتم تنفيذها بدقة وفقا للمعايير الدولية بالإضافة إلى ذلك فان نماذج المضادات الحيوية التي تمت دراستها في هذه الأطروحة توفر صياغة أكثر دقة للمقاومة وتقتراح إضافة الطابع الرسمي على التفاعل بين البكتيريا و المضادات الحيوية تعزز نتائج هذه التحليلات فكرة أن العدوى لا تزول أبدا بالتعرض للمضادات الحيوية ولكن إذا قمنا بدمج مزايا المضادات الحيوية مع تلك التي توفرها الأدوية المضادة للفوعة نظرا للمعايير المحددة للعدوى من الممكن تحديد استراتيجيات العلاج

### Résumé:

La chimie et biologie font aujourd'hui partie de notre environnement quotidien, ces deux disciplines étant à la croisé de nombreuses industries et de nombreux secteurs, tel que la pharmacie, l'agroalimentaire, l'environnement, la biotechnologie, constituant autant de domaines dans lesquels les professionnels de la chimie et la biologie exercent leurs activités.

Les méthodes expérimentales constituent l'ossature de ce travail, et en particulier les techniques de préparation des pastilles.menées avec rigueur selon les standards internationale. De plus, les modèles des antibiotiques qu'on a étudié dans ce mémoire apportent une formalisation plus précise de la résistance et proposent une formalisation de l'interaction entre les bactéries et les antibiotiques. Les résultats de ces analyses renforcent l'idée que l'infection ne disparaît jamais par multi-exposition aux antibiotiques mais si on combine les avantages des antibiotiques ceux fournis par les médicaments anti-virulence, étant donné les paramètres spécifiques de l'infection, il est possible d'identifier des stratégies de traitement.

### Abstract:

Chemistry and biology are today part of our daily environment, these two disciplines being at the crossroads of many industries and many sectors, such as pharmacy, agrifood, environment, biotechnology, constituting as many fields in which chemistry and biology professionals carry out their activities. The experimental methods constitute the backbone of this work, and in particular the techniques for preparing the pellets, carried out with rigor according to international standards. In addition, the antibiotic models studied in this thes provide a more precise formalization of resistance and propose a formalization of the interaction between bacteria and antibiotics. The results of these analyzes reinforce the idea that the infection never goes away with multiple exposure to antibiotics, but if we combine the advantages of antibiotics with those provided by anti-virulence drugs, given the specific parameters of the infection, it is possible to identify treatment strategies.