



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ «Abbès LAGHROUR» DE KHENCHELA
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE



Département Sciences de la matière

N° de série :.....

Mémoire de fin d'études

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

Spécialité : *Chimie analytique.*

Option : *Chimie analytique et environnement*

*La Résistance des Bactéries Escherichia Coli et
Staphylocoque aux antibiotiques bêta-lactamine*

Réalisé par : -*ABDI Nirmine*
- *CHEDIA Assia*

Dirigé par : *Dr. Takouachet Radhwane*

Membres de jury :
Président : *Sedrati Abdennour*
Examineur : *Djebaili Kenza*

Présenté le 02 Septembre 2020

2019 /2020

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 DJEBAILI KENZA et SADRATI ABDELNOUR

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

Nous remercions tous nos collègues de la spécialité (chimie Analytique et Environnement) M2 promo 2019 /2020.

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 (Abdelouahab) et Ma mère (fatiha) 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 frère : Mohammed Anis

A mes chères Sœurs : Lamis ; Hibat Erahmane ; Nour Albayane

A toute ma famille

*A ma très chère binôme et amie : **ASSIA CHEDIDA***

A tous mes amis surtout : Roumaissa ; Nabila ; Abir ; Imen ; Khaoula ; Houda ; Bessma ; Nadjat ; Mazi ; Randa ; Micho

A tous mes collègues de la même spécialité



Nirmine



DÉDICACE

Dédie ce modeste travail a :

*Mon très cher et agréable **père** qui sacrifie sa vie pour me voir
heureuse.*

*Ma très chère **mère** pour leur encouragement que dieu les gardes
pour moi.*

*Surtout mon mari : **Abed Elhak ARRAS.***

*A mon petit fils : **ADIB***

*Mes très chères sœurs : **NADJOUA ; RADJA ; SANA ; SOULAF***

*A mon cher frère : **THAHER***

A toute ma famille

*A ma très chère binôme et amie : **NIRMINE ABDI***

A tous mes amis

A tous mes collègues de la même spécialité.



ASSIA

Hommage au Professeur. Bekha

C'est avec un profond chagrin et la plus grande tristesse que notre très cher Enseignant Bekha Hani a succombé après un long combat contre le cancer. La disparition brutale et inattendue de Notre enseignant a particulièrement bouleversé sa famille, ses amis, ses collègues et surtout ses étudiants

Monsieur Bekha était un exemple de modestie, de générosité et de sympathie. Il a toujours été à l'écoute des autres, disponible et présent pour apporter son aide et ses conseils désintéressés aux personnes qui l'entouraient et plus particulièrement aux étudiants, doctorants et jeunes chercheurs. La dévotion de Mr. Bekha à son travail n'avait d'égal que sa discrétion et son humilité. Nous nous souviendrons pour toujours de son professionnalisme, ses compétences et ses qualités humaines.

Ô combien tu nous manques et nous manqueras toujours.

Paix à ton âme Très Cher Enseignant.

Tes étudiantes **ABDI Nirmine et **CHEDIDA Assia****

❖ Liste des figures

Figure 01 : structure d'une bactérie.....	5
Figure 02 : Représentation des principales cibles des antibiotiques.....	8
Figure 03 : Résumé des différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques.....	11
Figure 04 : Structure du noyau β -lactame.....	13
Figure 05 : Structures générales des principales classes de β -lactamines.....	14
Figure 06 : Classes d'antibiotiques à base d'anneau bêta-lactame.....	16
Figure 07 : Structure de la paroi bactérienne.....	17
Figure 08 : Inhibition de la croissance d'une culture de <i>Staphylococcus aureus</i> la moisissure <i>Penicillium notatum</i>	24
Figure 09 : structure d'une bactérie.....	26
Figure 10 : représentation des différentes formes bactériennes.....	27
Figure 11 : Représentation du peptidoglycane de la paroi bactérienne.....	28
Figure 12 : Comparaison entre la paroi cellulaire d'une bactérie Gram + et d'une bactérie Gram -	30
Figure 13 : Schéma de <i>E.coli</i>	31
Figure 14 : Cycle de vie d' <i>E. Coli</i>	33
Figure 15 : Structure cellulaire de <i>staphylococcus aureus</i>	41
Figure 16 : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> microscopie électronique X 20000).....	42
Figure 17 : l'antibiothérapie des infections à staphylocoques.....	47
Figure 18 : Test de diffusion d'un antibiotique : détermination de l'efficacité des substances antimicrobiennes.....	50
Figure 19 : Un antibiogramme.....	53
Figure 20 : lecture des ATBG en utilisant les pastilles commerciales d'ANB sur différent milieux.....	57

Figure 21 : préparation des pastilles a la pénicilline G.....	58
Figure 22 : Technique de préparation des pastilles.....	59

❖ Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification des bêta-lactamines.....	18
Tableau 02 : Caractères biochimiques d'E. Coli.....	34
Tableau 03 : La physiopathologie d'Escherichia coli.....	37
Tableau 04 : Facteurs de virulence de Staphylococcus aureus.....	44
Tableau 05 : Résultats microbiologiques.....	53
Tableau 06 : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes \pm 1 écart-type calculés 400 tests).....	54

❖ 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 messenger.

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 : unité formant colonie.

UPEC : Escherichia Coli UroPathogène.

UTI : Infection du Tractus Urinaire.

UTI : urinary tract infection.

Sommaire

<i>Introduction générale</i>	2
Etude bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur les antibiotiques	
<i>Introduction</i>	5
<i>I. Généralité des antibiotiques</i>	5
<i>I.1. Définition</i>	5
<i>I.2. Historique</i>	6
<i>I.3. Rôle des acteurs hospitaliers dans le bon usage des antibiotiques</i>	7
<i>I.4. Mode d'action des antibiotiques</i>	7
<i>I.4.1. Action sur la paroi bactérienne</i>	7
<i>I.4.2. Action sur la membrane cytoplasmique</i>	7
<i>I.4.3 Action sur la réplication de l'ADN</i>	8
<i>I.4.4 Action sur la traduction de l'ARN messager</i>	8
<i>I.4.5 Action sur le métabolite intermédiaire</i>	8
<i>I.5. Les familles des ATB</i>	9
<i>I.6. Résistance aux antibiotiques</i>	9
<i>I.6.1. Définition</i>	9
<i>I.6.2. Mécanisme</i>	10
<i>a. Résistance naturelle</i>	10
<i>b. Résistance acquise</i>	11
<i>I.7. Classification des antibiotiques</i>	12
<i>II. Antibiotique bêta-lactamine</i>	13
<i>II.1. Définition</i>	13
<i>II.2. Usage clinique</i>	15
<i>II.3. Mode d'action</i>	15
<i>II.4. Mécanismes d'action des bêta-lactamines</i>	15

<i>II.5.UTILISATION DE PLP ALTERNATIVES</i>	16
<i>II.6.Pénétration des beta-lactamines</i>	17
<i>II.7.Classification des bêta-lactamines</i>	18
Chapitre 2 : Les bactéries	
<i>Introduction</i>	26
<i>I.Leur forme structurelle</i>	27
<i>II.Leur paroi : comparatif Gram + et Gram –</i>	27
<i>II.1. Gram +</i>	28
<i>II.2. Gram –</i>	29
<i>A. ESCHERICHIA COLI DÉTAILLÉ</i>	30
<i>A.1.Historique</i>	30
<i>A.2 définition d'Escherichia coli</i>	30
<i>A.3. Habitat</i>	32
<i>A.3.1. Habitat primaire</i>	32
<i>A.3.2. Habitat secondaire</i>	32
<i>A.4. Identification d'Escherichia coli sur les milieux nutritifs</i>	33
<i>A.4.1.Caractères morphologiques et culturels</i>	33
<i>A.4.2.Caractères biochimiques</i>	33
<i>A.4.3.Caractères moléculaires</i>	35
<i>A.5.Les deux catégories de E .coli</i>	35
<i>A.5.1 E. coli pathogènes intestinaux</i>	35
<i>A.5.2 E. coli pathogènes extra-intestinaux</i>	36
<i>A.6. Facteurs de virulence</i>	37
<i>A.7. Les sérotypes d'Escherichia coli</i>	39
<i>A.8. Traitement</i>	40
<i>A.8.1. Traitement curatif</i>	40
<i>A.8.2. Traitement préventif</i>	40

<i>B.les staphylocoques</i>	40
<i>B.1.Historique</i>	40
<i>B.2.Définition de staphylocoque</i>	41
<i>B.3. Staphylococcus aureus</i>	41
<i>B.3.1. Taxonomie</i>	41
<i>B.3.2. Habitat</i>	42
<i>B.3.3.Caractères bactériologiques</i>	42
<i>B.3.4. Pouvoir pathogène</i>	43
<i>B.3.5.Facteurs de virulences</i>	44
<i>B.3.6. Traitement</i>	46
<i>B.3.7. Prophylaxie</i>	46
Chapitre 03 : Les Antibiogramme	
<i>1. Introduction</i>	49
<i>2. Techniques des Antibiogramme.</i>	49
<i>3. Choix de l'antibiotique</i>	51
<i>3.1. Résistances naturelles et acquises des bactéries</i>	51
<i>3.2. Lecture de l'antibiogramme</i>	51
<i>3.3. Microorganismes résistants aux antibiotiques</i>	53
<i>Partie expérimentale</i>	57
Conclusion générale	62
Référence bibliographique	
Résumé	

Introduction générale

Introduction

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 pharmacorésistants. Des organismes tels que *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis* multirésistant et ultrarésistant, *Neisseriagonorrhoeae*, *Enterobacteriaceae* résistant au carbapénème et des bactéries produisant des β -lactamases à spectre étendu, comme *Escherichia coli*, sont particulièrement préoccupants [4].

Les β -lactamines 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 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 et à la production de β -lactamases, 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 fundamentalistes 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 de *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 classificatio.

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 bêta-lactamines). 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].

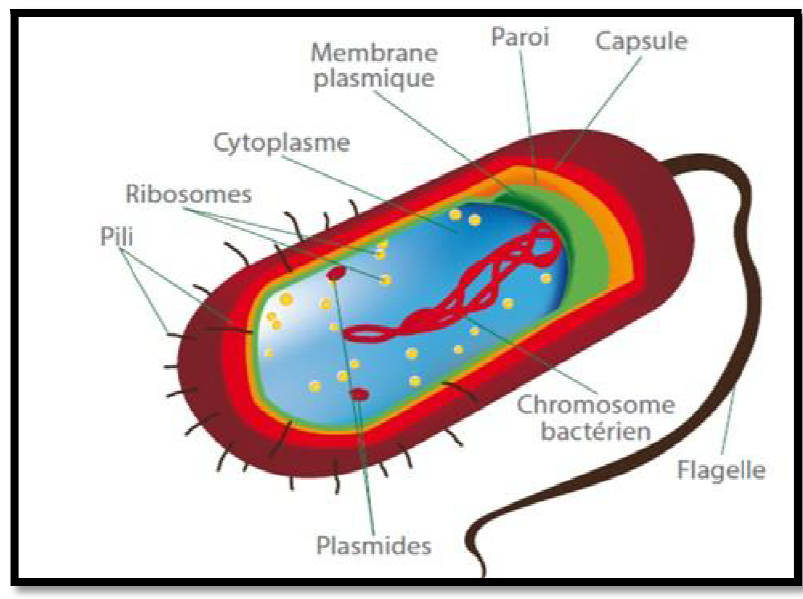


Figure 01 : structure d'une bactérie [12].

Chapitre 01 : ————— *Généralités sur les antibiotiques*

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].

I.3. 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].

I.4. 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 :

I.4.1. 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.

I.4.2. 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.

Chapitre 01 : Généralités sur les antibiotiques

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.

I.4.3 Action sur la réplication de l'ADN :

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

I.4.4 Action sur la traduction de l'ARN messenger :

L'ARN messager ou l'ARN de transport sont les cibles des antibiotiques et les mécanismes de traduction de l'ARN messager 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.

I.4.5 Action sur le métabolite intermédiaire :

La cycloserine, les sulfamides, l'acide para-aminosalicylique, le triméthoprim 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].

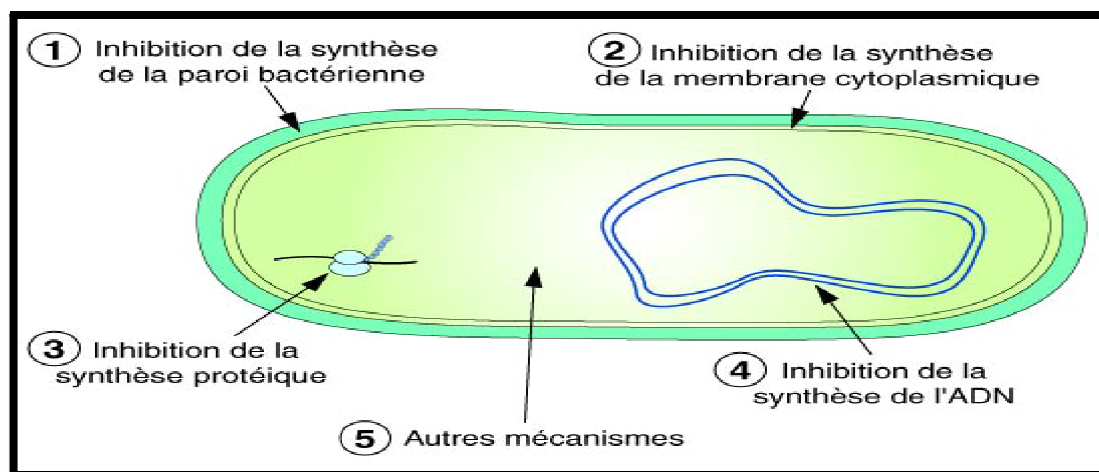


Figure 02 : Représentation des principales cibles des antibiotiques.

I.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, photosensibilisation, 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].

I.6. Résistance aux antibiotiques :

I.6.1. 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].

I.6.2.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. 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, lincosamides, 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 plasmique 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].

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].

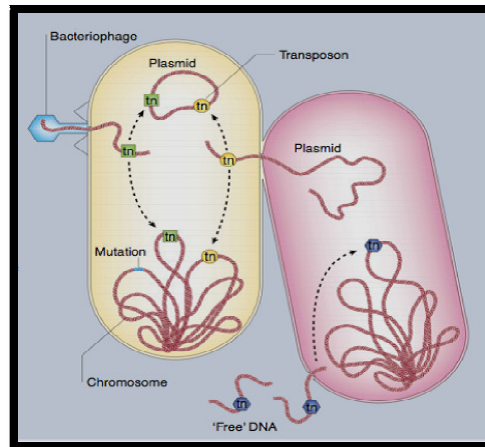


Figure 03 : Résumé des différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques[19].

I.7.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).

7) **Hydro ou lipophile** :

a) Hydrophile : coefficient de partition < 0,1.

b) Lipophile : coefficient de partition ≥ 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 bêta-lactamine :

II.1. Définition :

Les β -lactamines, représentent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en Antibioprophylaxie et en antibiothérapie. L'importance de leur utilisation résulte de leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité thérapeutique ainsi que le faible coût de certaines molécules [21]. La résistance bactérienne croissante à cette famille d'antibiotiques sera l'objet de ce mémoire. Les β -lactamines regroupent les pénicillines, les monobactames, les inhibiteurs de β -lactamases, les céphalosporines (1ère à 4ème génération) et les carbapénèmes. Elles se caractérisent par la présence d'un élément structural commun, soit le noyau β -lactame, nécessaire à l'activité antibactérienne de l'antibiotique (Figure 04).

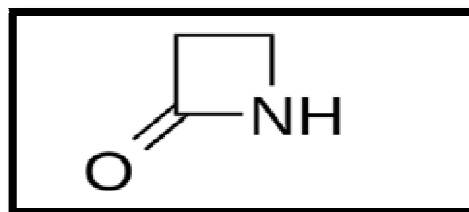


Figure 04 : Structure du noyau β -lactame

Le noyau β -lactame est constitué de trois atomes de carbone et un d'azote. En raison de sa conformation, le cycle β -lactame est fortement tendu. En effet, la liaison entre le groupe carbonyle et l'atome d'azote est instable et rend donc la molécule réactive [22].

La classification des β -lactamines dépend de la chaîne latérale additionnelle ajoutée au noyau β -lactame, induisant essentiellement des différences dans la biodisponibilité de l'antibiotique ainsi qu'une extension du spectre d'activité à l'égard des bactéries à Gram négatif [23]. La Figure 6 présente la structure générale des 5 classes de β -lactamines.

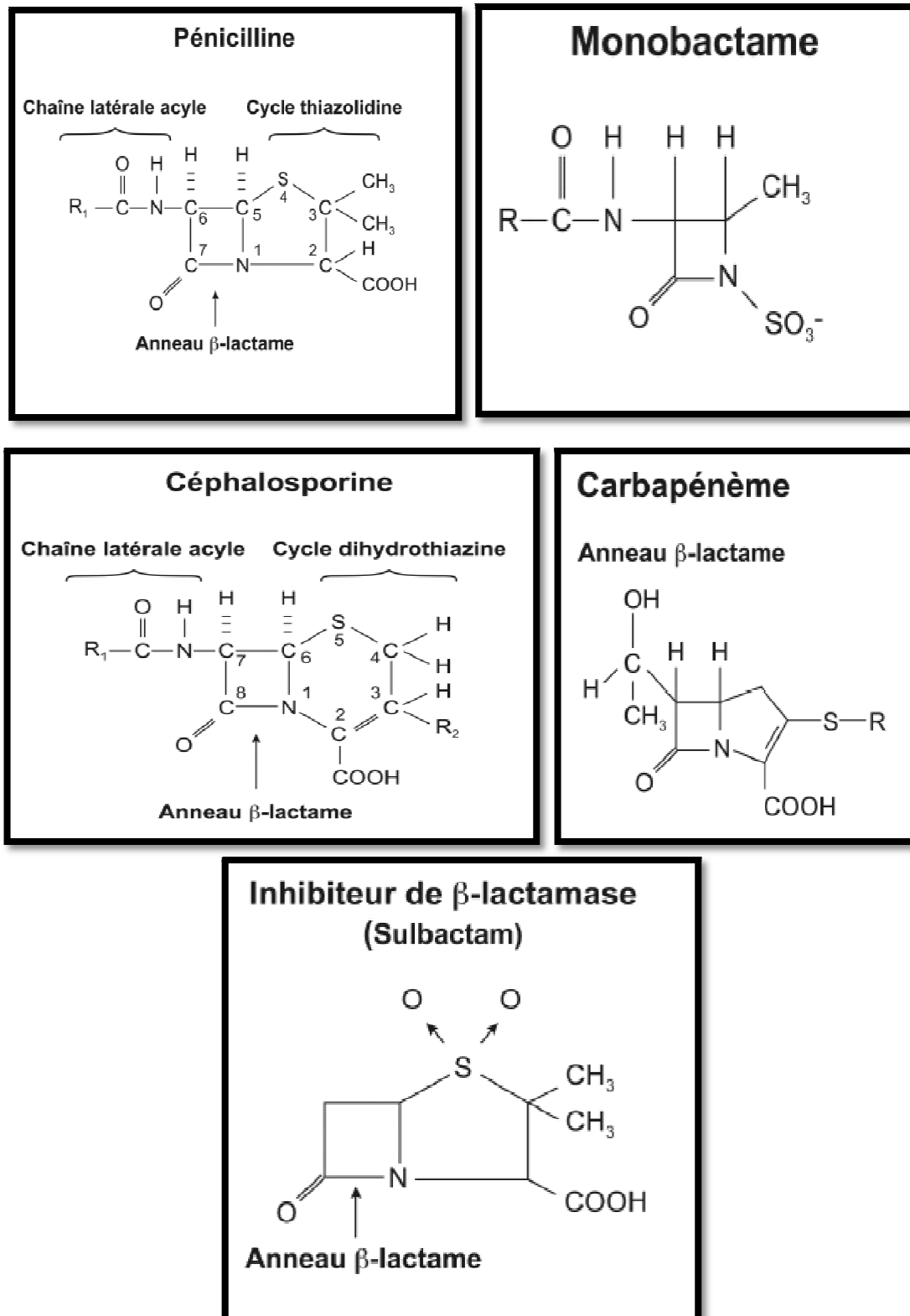


Figure 05 : Structures générales des principales classes de β -lactamines[24].

II.2. Usage clinique :

Les bêta-lactamines sont le traitement de référence des infections à pneumocoque. Cependant, certains pneumocoques ont développé une résistance contre ce médicament par modification des protéines qui se lient à la pénicilline. Il faut alors augmenter les doses de bêta-lactamines ou leur substituer de la vancomycine ou de la rifampicine[25].

II.3. Mode d'action :

Toutes les bêta-lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées PLP, sont insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Pour être actives, les bêta-lactamines vont devoir atteindre leur cible en pénétrant dans la paroi bactérienne et se fixer sur les PLP.

La connaissance de la structure de la paroi bactérienne et le rôle physiologique des cibles de ces agents antibiotiques permet de mieux comprendre le mécanisme d'action des bêta-lactamines et, par la suite, les mécanismes de résistance des bactéries à ces antibiotiques[5].

II.4. Mécanismes d'action des bêta-lactamines :

L'enveloppe des entérobactéries comprend, de l'extérieur vers l'intérieur : la membrane externe, la paroi (peptidoglycane) et la membrane cytoplasmique. Les cibles des bêta-lactamines sont des protéines, situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique, appelées « protéines de liaison aux pénicillines : PLP ». Ces protéines catalysent des réactions de transglycosylation et/ou de transpeptidation : la première permet de relier les saccharides et les peptides entre eux, aboutissant à la formation de longues chaînes polysaccharidiques linéaires. La seconde permet d'incorporer les chaînes polysaccharidiques néo-synthétisées au peptidoglycane préexistant [26].

Les bêta-lactamines inhibent une étape nécessaire à la réticulation du peptidoglycane : la transpeptidation. En effet, elles présentent une analogie structurale avec le dipeptide D-Alanine-D-Alanine, qui constitue le substrat naturel des PLP. De ce fait, elles se comportent comme des substrats suicides de ces enzymes. Donc, l'antibiotique se lie au site actif des PLP pour former un complexe pré-covalent, puis le cycle bêta-lactame s'ouvre pour former une

liaison covalente irréversible avec la sérine active de la poche catalytique des PLP, entraînant l'inhibition des PLP, ce qui est traduit par un arrêt de la synthèse du peptidoglycane [27]. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant ainsi la lyse cellulaire [28].

II.5.UTILISATION DE PLP ALTERNATIVES :

Chez *Staphylococcus aureus*:

- résistance à la méticilline,
- croisée avec toutes les autres bêta-lactamines,
- également très répandue chez les staphylocoques à coagulase négative,
- expansion clonale,
- phénomène nosocomial, émergence récente en milieu communautaire,
- PLP2a : faible affinité pour les bêta-lactamines, activité conservée de synthèse du peptidoglycane en présence de bêta-lactamines,
- déterminisme chromosomique = gène *mecA*,
- expression phénotypique de la résistance de manière homogène ou de manière hétérogène, rendant sa détection au laboratoire parfois difficile[29].

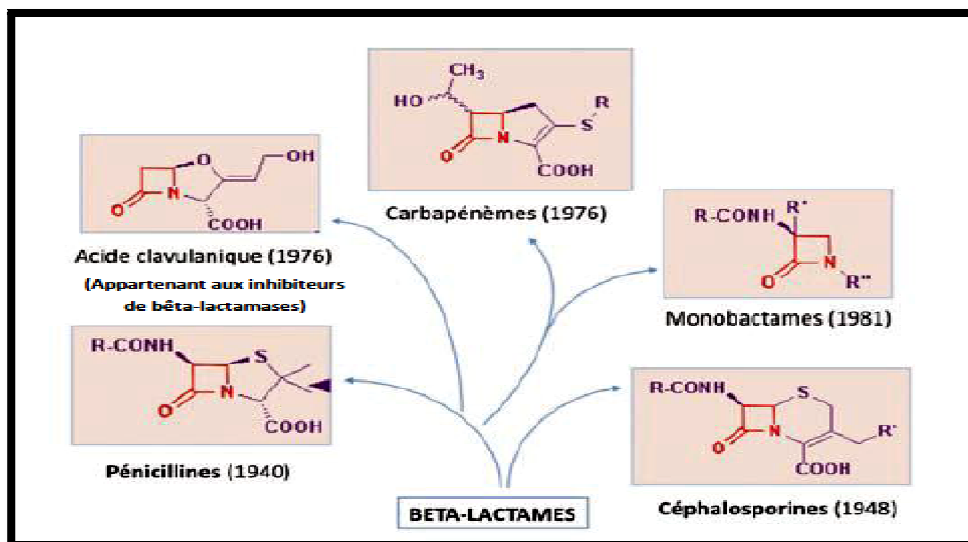


Figure 06 : Classes d'antibiotiques à base d'anneau bêta-lactame[30].

II.6. Pénétration des beta-lactamines :

1. Facile chez les bactéries à Gram positif dont le peptidoglycane est relativement perméable aux bêta-lactamines (sauf celui d'*E. faecalis*),
2. Chez les bactéries à Gram négatif :
 - passage marginal par voie lipophile,
 - les porines sont le moyen de passage préférentiel des bêta-lactamines hydrophiles de taille modérée ou faible :
 - la membrane imprime un certain degré de ralentissement du passage passif des bêta-lactamines,
 - la vitesse de diffusion varie avec la taille des molécules, leur hydrophilie relative et leur charge électrique,
 - existence de pompes d'efflux (carbénicilline et système MexAB/OprM de *Pseudomonas aeruginosa*).

Chez les bactéries à Gram négatif, ces propriétés de perméabilité vont contribuer à définir le phénotype naturel de résistance propre à chaque espèce bactérienne [29].

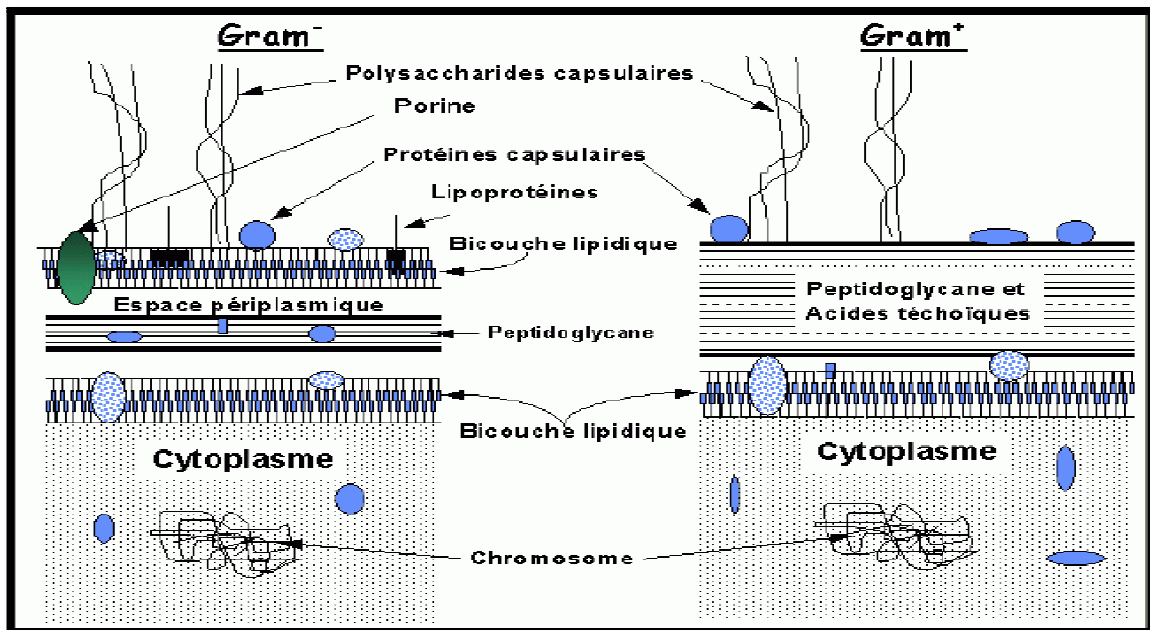


Figure 07 : Structure de la paroi bactérienne [31].

II.7. Classification des bêta-lactamines[32] :**Tableau 01 :** Classification des bêta-lactamines.

Classification des bêta-lactamines	Principes actifs disponibles en France
Pénicilline du groupe G et V	Benzylpénicilline sodique Phénoxyéthylpénicilline Benzathine-benzylpénicilline
Pénicilline du groupe M	Cloxacilline Oxacilline
Pénicilline du groupe A	Amoxicilline Ampicilline
Carboxypénicilline	Ticarcilline Témocilline
Uréidopénicilline	Pipéracilline
Céphalosporines de 1ère génération	Céfadroxil Céfalexine Céfazoline Céfaclor Céfradine
Céphalosporines de 2ème génération	Céfuroxime Céfoxitine Céfamandole
Céphalosporines de 3ème génération	Céfotaxime

	Ceftriaxone Ceftazidime Céfixime Cefpodoxime Céfotiam
Céphalosporines de 4ème génération	Céfépime Cefpirome
Autres céphalosporines et pénèmes	Ceftaroline Ceftobiprole
Carbapénèmes	Imipénème Méropénème Ertapénèm
Monobactames	Aztréonam
Inhibiteurs des bêta-lactamases	Acide clavulanique Sulbactam Tazobactam

Classification

a. Pénicillines G et V (« naturelles »)

 la pénicilline G:

- est utilisable exclusivement par voie intraveineuse,
- l'administration intrathécale en est contre-indiquée (encéphalopathie convulsivante),
- sa demi-vie est courte, imposant des doses rapprochées, ou idéalement une perfusion continue à la seringue électrique sur 24 heures,

Chapitre 01 : ————— *Généralités sur les antibiotiques*

- la modification de sa chaîne latérale aboutit à des dérivés plus stables partiellement absorbés par voie orale (pénicilline V), et l'addition de procaïne permet de ralentir son absorption après injection intra-musculaire (Extencilline*),
- sa diffusion est correcte, sauf dans les méninges,
- son élimination se fait essentiellement par voie rénale, d'où le risque de crise convulsive par surdosage en cas d'insuffisance rénale,
- posologies : 10 à 24 millions d'unités par jour IVSE.

✚ la pénicilline V:

- est administrable per os,
- sa biodisponibilité est de 50% environ, sa diffusion est moins bonne que celle de la pénicilline G,
- posologie : 1 million d'unités toutes les 8 heures, PO, ORACILLINE*.

✚ l'Extencilline:

- s'injecte par voie intramusculaire, sa demi-vie est longue, elle diffuse correctement même dans le LCR, taux sériques efficaces pendant 2 à 3 semaines,
- posologie : 1,2 à 2,4 millions d'unités, IM, 1 fois par semaine.

✚ Contre les cocci à Gram positif:

- les pénicillines naturelles ont intrinsèquement une activité supérieure aux autres bêta-lactamines contre les staphylocoques... en l'absence de mécanisme de résistance acquis (> 90% des souches de S. aureus actuellement y sont R...),
- elles sont très actives contre les streptocoques, actives contre les pneumocoques (mais > 45% des souches sont PSDP, donc non indiquée dans le traitement des méningites et OMA),
- les entérocoques y sont moins sensibles que les autres streptocoques,
- Indications : endocardites à streptocoques et à SAMS non sécréteur de pénicillinase (pénicilline G IVSE), angines streptococciques (Oracilline, 10 jours), dermo-hypodermite à streptocoque bêta-hémolytique du groupe A (péni-G IVSE), prophylaxie des rechutes du RAA et de l'érysipèle récidivant (Extencilline , 1 injection toutes les 3 à 4 semaines), prophylaxie des pneumococcémies chez le drépanocytaire ou le sujet splénectomisé (Oracilline).

✚ Contre les autres aérobies à Gram positif:

- indiquées contre *Corynebacterium diphtheriae*, en association avec le sérum antitoxinique,

Chapitre 01 : —————*Généralités sur les antibiotiques*

- actives sur certains germes responsables de maladies d'inoculation à Gram positif: charbon (*Bacillus anthracis*), rouget du porc (*Erysipelothrix rhusopathiae*), *Streptobacillus moniliformis* ; et à Gram négatif : pasteurellose (*Pasteurella multocida*),

☒ Contre les aérobies à Gram négatif:

Elles sont théoriquement actives contre les Neisseriaceae,

☒ Contre les anaérobies:

-seules les espèces *Bacteroides fragilis* et *Clostridium difficile* ont une résistance naturelle,
-les autres espèces d'anaérobies sont naturellement sensibles et les pénicillines naturelles sont indiquées dans le traitement du tétanos, de l'angine de Vincent, de la gangrène gazeuse, des septicémies à *C. perfringens*, de l'actinomycose,

b.Penicillines anti-staphylococciques (GROUPE « M »)

☒ la Méticilline:

- chef de file des pénicillines du groupe M,
- résiste à l'hydrolyse induite par la pénicillinase de staphylocoque,
- administrable uniquement par voie intraveineuse,
- toxicité rénale,
- retirée du marché,

☒ l'Oxacilline(Bristopen) : 3 g/j PO, 1 à 1,5 g x 6/j IV

☒ la Cloxacilline(Orbénine)

- mauvaise biodisponibilité orale +++ (30% pour le Bristopen - 60% pour l'Orbénine), à administrer à distance des repas,
- très forte fixation protéique,
- toxicité hépatique à forte dose, ne pas dépasser 9 g/j,
- spectre très étroit sur *S. aureus* méti-S sécréteur de pénicillinase +++
- moins actives que la pénicilline G et que les pénicillines A sur les rares *S. aureus* sauvages et sur les streptocoques, dont les pneumocoques,
- les entérocoques y sont résistants.

☒ Pharmacocinétique:


-Mauvaise absorption digestive : à prendre à jeun, privilégier la cloxacilline,

- Faible diffusion dans le LCR, la prostate, l'os,
 - Par voie orale, le temps de contact à C > CMI est de 10-15% pour S. aureus et de 30% pour Streptococcus pyogenes, donc très insuffisant pour une utilisation dans les infections graves
- +++


Indications thérapeutiques:


- Infections graves à SAMS (endocardites, bactériémies, arthrites, staphylococcies malignes de la face) = voie IV +++, en association en début de traitement avec la gentamicine,
- Infections cutanées non compliquées à SAMS (impétigo, furoncle) = voie PO.

c.Aminopénicillines :


 Spectre: c'est celui de la pénicilline G mais avec :

- une activité plus forte que la pénicilline G sur les streptocoques dont les pneumocoques et sur Enterococcus faecalis,
- une meilleure activité que l'oxacilline sur les rares souches de S. aureus sauvages,
- un élargissement de l'activité aux entérobactéries du groupe I (absence de sécrétion naturelle de pénicillinase : E. coli, Salmonella spp. , Shigella spp. , Proteus mirabilis) et sur les souches d'Haemophilus influenzae non sécrétrices de pénicillinase,
- une meilleure pharmacocinétique vis-à-vis des Neisseriaceae,
- une activité contre Listeria monocytogenes et contre Bartonella spp.

 l'Ampicilline(Totapen) : mauvaise biodisponibilité orale

 l'Amoxicilline(Clamoxyl) a une biodisponibilité orale de 90%

- bonne diffusion, y compris dans le LCR (fortes doses),
- élimination rénale,

 Indications:

- Infections streptococciques : endocardites, angines, érysipèles, bactériémies...
- Infections à Enterococcus faecalis et à certains E. faecium,
- Pneumonies à S. pneumoniae et méningites à S. pneumoniae sensible à la pénicilline,
- Infections à Listeria monocytogenes,
- Méningites à N. meningitidis sensibles à la pénicilline,

- Maladie de Lyme à la phase primaire,
- Pasteurellose,

d.Carboxypénicillines :

 **la Ticarcilline(Ticarpén) :**

Chapitre 01 : Généralités sur les antibiotiques

- élargissement du spectre des aminopénicillines aux espèces sécrétrices d'une céphalosporinase chromosomique : *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, entérobactéries du groupe III (*Serratia* spp. , *Enterobacter* spp. , *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*),
- mais moindre activité que les aminopénicillines sur les cocci à Gram positif, notamment les entérocoques,
- n'est utilisable que par voie intra-veineuse,
- posologie : 5 grammes x 3/jour, IV,
- élimination urinaire,
- apport sodé important avec risque d'hypokaliémie et d'alcalose métabolique.

e. Ureidopenicillines

🧪 la Pipéracilline:

- a une meilleure activité que la Ticarcilline sur les bacilles à Gram négatif non sécréteurs de pénicillinase,
- récupère l'activité de l'amoxicilline sur *Enterococcus faecalis* et les streptocoques,
- possède une bonne activité sur les anaérobies, y compris *Bacteroides fragilis*,
- pharmacocinétique non linéaire,
- posologie : 4 grammes x 3 ou 4/jour, IV,
- élimination essentiellement urinaire, mais de manière non négligeable par voie biliaire,
- bonne diffusion[29].

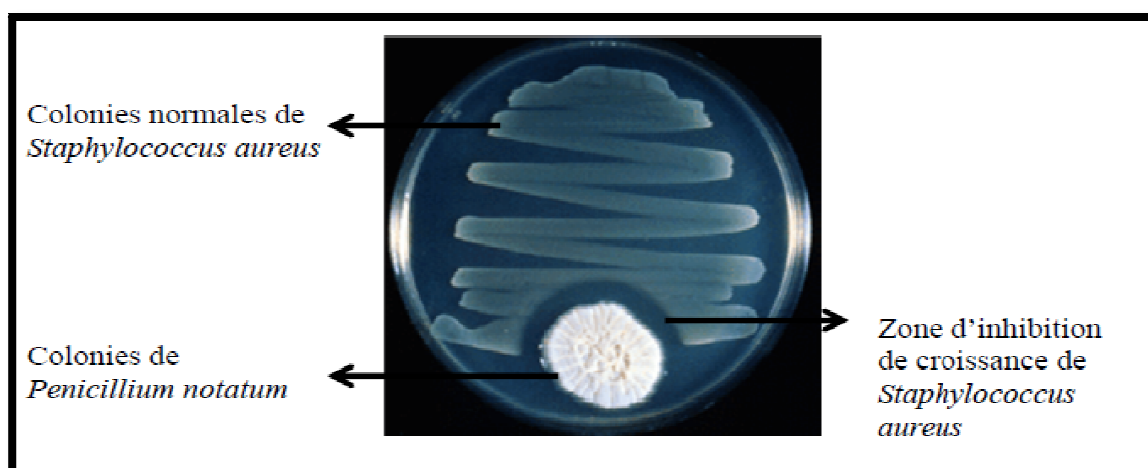


Figure 08 : Inhibition de la croissance d'une culture de *Staphylococcus aureus* par la moisissure *Penicillium notatum*[33].

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.

Chapitre 02 :

Les bactéries



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 10¹³ bactéries contre 10¹² cellules pour le corps humain[37].

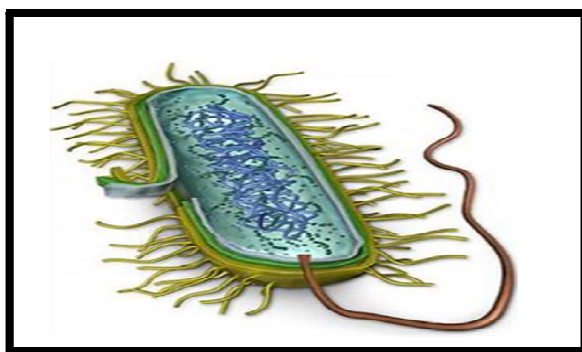


Figure 09: structure d'une bactérie.

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].

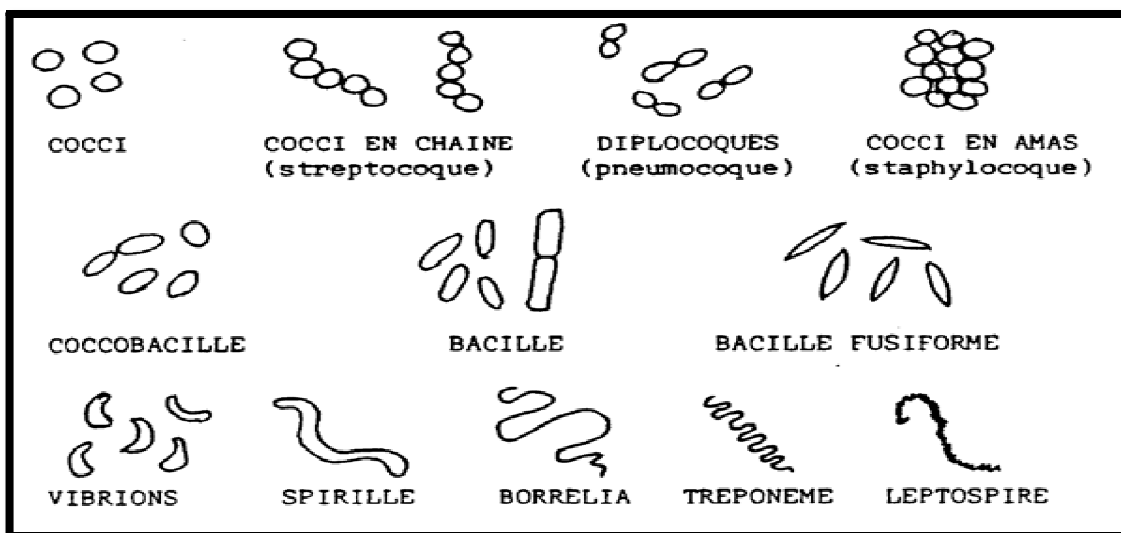


Figure 10 : représentation des différentes formes bactériennes.

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].

II.1. **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.

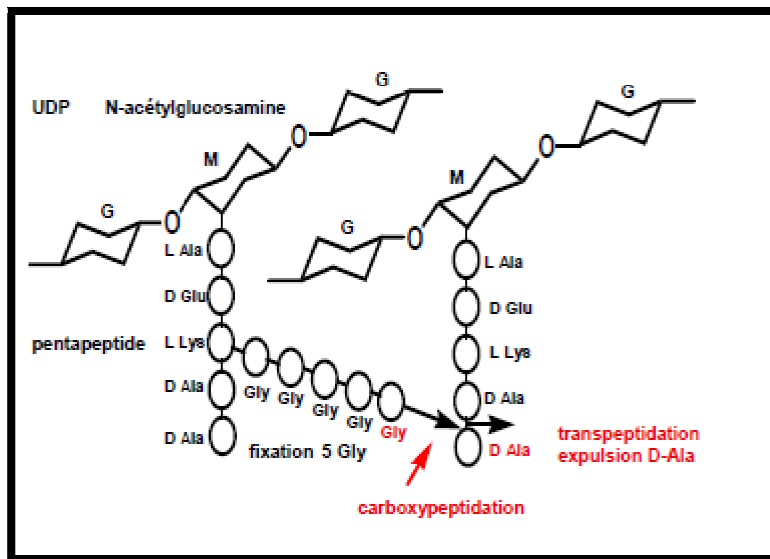


Figure 11 : Représentation du peptidoglycane de la paroi bactérienne.

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 ribose phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie. Certains 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].

II.2. **Gram –** :

Chez les bactéries à Gram négatif, il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représentent 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 tétrapeptide 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 (β -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.

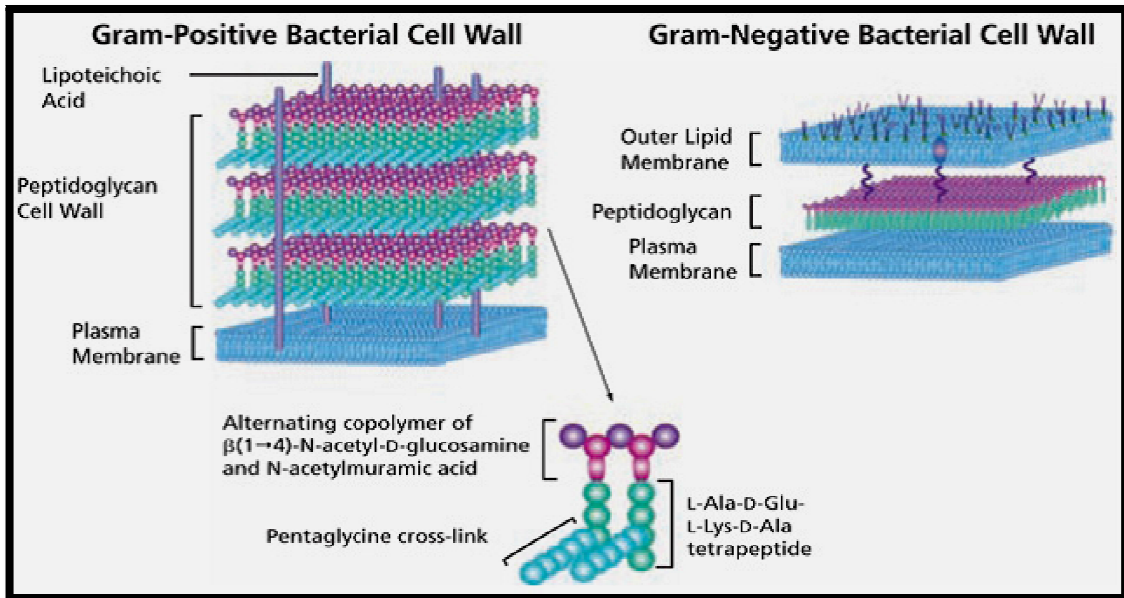


Figure 12 : Comparaison entre la paroi cellulaire d’une bactérie Gram + (à gauche) et d’une bactérie Gram – (à droite).

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].

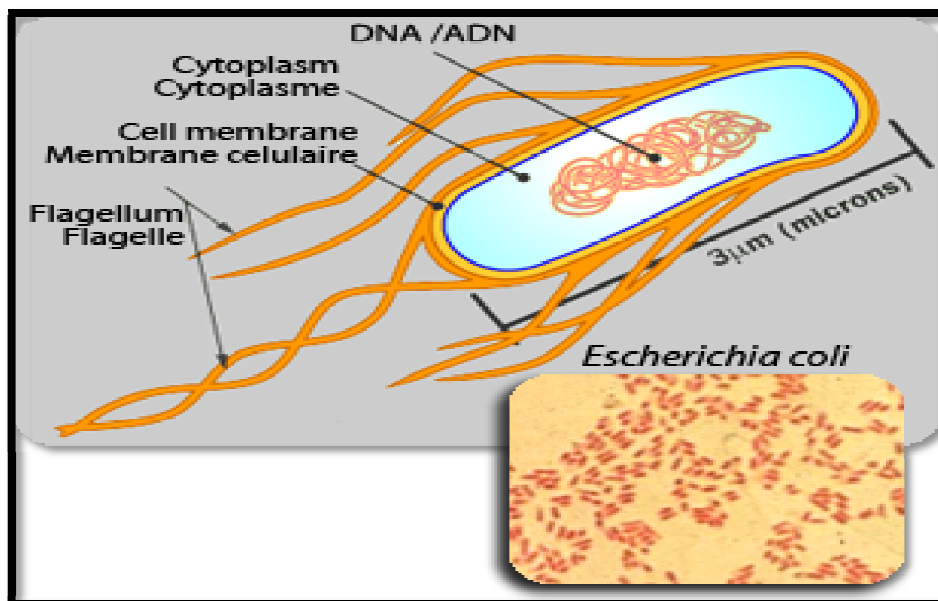


Figure 13 : Schéma d'*E.coli*

A.3. Habitat :**A.3.1. 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 10⁶ 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].

A.3.2. Habitat secondaire :

La bactérie *E. coli* est rejetée dans l'environnement à travers les fèces à une concentration d'environ 10⁸ 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].

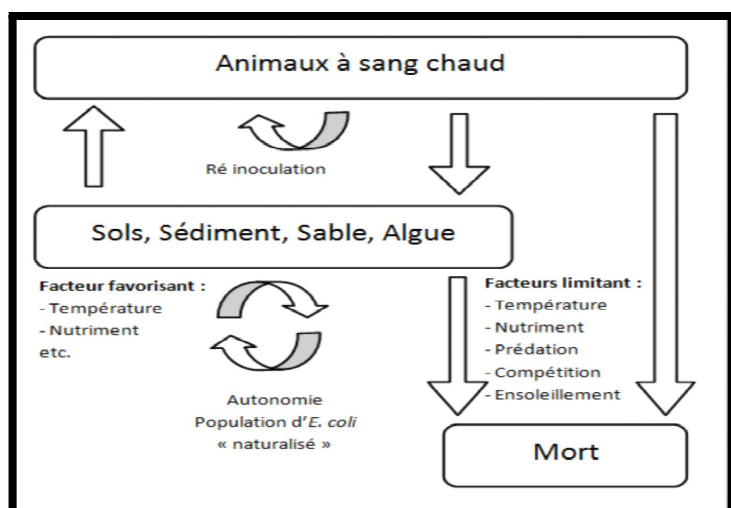


Figure 14 : Cycle de vie d'*E. Coli*[48].

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].

A.4. Identification d'*Escherichia coli* sur les milieux nutritifs :

A.4.1. Caractères morphologiques et culturaux :

Escherichia coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ 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].

A.4.2. 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

certaines 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].

Tableau 02: Caractères biochimiques d'*E. Coli*[56].

Tests	Résultats
Glucose	+
Lactose	+
Hydrogène Sulfuré	-
Voges-Proskauer	-
Uréase	-
Indole	+
Citrate De Simmons	-
Orthonitrophenyl-β-D-Galactopyranoside	+
Citrate De Christensen	+
Arginine dihydrolase	+/-
Gélatinase	-
Malonate	-
Phényl-Alanine Désaminase	
Lysine Décarboxylase	+
Ornithine Décarboxylase	+
Tryptophane Désaminase	-
Nitrate Réductase	+

A.4.3. 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].

A.5. Les deux catégorisés de E .coli :**A.5.1 E. coli pathogènes intestinaux :**

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

- Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC)
- Les *E. coli* entéro-pathogènes (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 entérotoxigène (ETEC) :

Les *E. coli* entérotoxigènes (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 entéro-pathogène (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- α [61].

A.5.2 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 UTI 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 UTI peuvent mener à une septicémie. Ces septicémies causent en moyenne 40000 morts par année aux États-Unis. Les UTI 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].

A.6. Facteurs de virulence :

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

Tableau 03 : 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

<p>ETEC (O6, O8, O15,O20, O25, O63, O78, O80, O85, O115, O128, O139)</p>	<p>Diarrhées très Liquidienne</p>	<p>Entérotoxine thermolabile Entérotoxine Thermostable</p>	<p>Adhésion aux entérocytes de l'intestin grêle.</p>
<p>EIEC (O28, O112, O124, O136, O143, 144, O147, O152)</p>	<p>Diarrhées Dysentériques</p>	<p>Entérotoxine Shiga-like</p>	<p>Invasion et multiplication dans les entérocytes du côlon</p>
<p>EHEC (O157 mais aussi O26 et O111)</p>	<p>Diarrhées sanglantes, Colites Hémorragiques</p>	<p>Vérottoxine</p>	<p>Adhésion étroite et destruction des microvillosités des entérocytes du côlon</p>
<p><i>E.coli</i>K1</p>	<p>-Méningite néonatales</p>	<p>-L'antigène k1 capsulé.</p>	<p>-l'opposition à la phagocytose</p>
<p>- <i>E.coli</i>O 1, 2, 4, 6, 7, 16, 18, 75. - <i>E.coli</i>K 1, 2, 3, 12, 13.</p>	<p>Infections urinaires</p>	<p>Adhésines</p>	<p>-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	Bactériémie	<ul style="list-style-type: none"> -des systèmes de captation du fer - des cytotoxines. -la capsule - les chaînes latérales du lipopolysaccharide (LPS). 	<ul style="list-style-type: none"> -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).
-------------------	-------------	--	---

A.7. 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 sérogroupes Ag O, 80 sérogroupes Ag K et 56 sérogroupes 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. colicom* [71], et pathogène [72].

A.8. Traitement :

A.8.1. 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].

A.8.2. 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 :

B.1. 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 chroocommunautaires que nosocomiales.

B.2. 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].

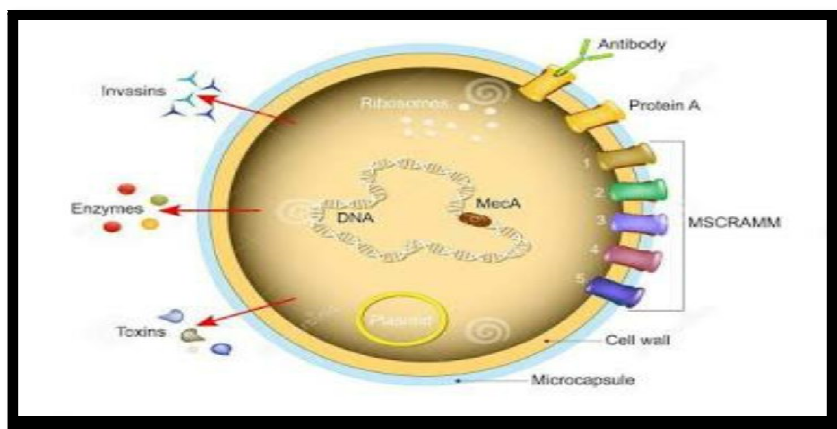


Figure 15 : Structure cellulaire de *staphylococcus aureus*.

B.3. Staphylococcus aureus :

B.3.1. 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 10³ à 10⁴ CFU/cm² [77].

B.3.3. 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].

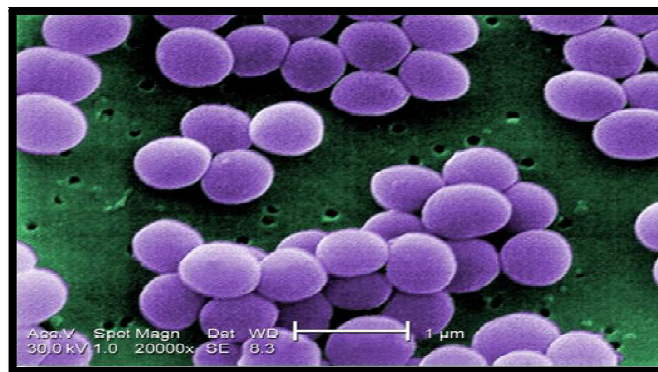


Figure 16 : Aspect de *Staphylococcus aureus* (microscopie électronique X 20000) [78].

b/. caractères cultureux :

S. aureus est aérobic, anaérobic facultatif et se 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 1 mm ; 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(-), acétoïne(+), uréase(+), réduction du tellurite de potassium, des nitrates en nitrites, production d'ammoniaque à partir de l'arginine [75].

B.3.4. 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

toxino-génèse (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].

B.3.5. 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 04 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* [75].

	Facteurs	Gènes	fonctions
Constituants de la paroi cellulaire	Clumping factor A	clfA	Adhésion au fibrinogène
	Clumping factor B	clfB	Adhésion au fibrinogène
	Coagulase	Coa	Liaison au fibrinogène
	Protéine Fib A	fibA	Liaison au fibrinogène
	Fibronéctine liée à la protéine A	fnbA	Attachement à la fibronéctine
	Fibronéctine liée à la protéine B	fnbB	Attachement à la fibronéctine
	Collagène lié à la protéine	Cna	Adhésion au collagène
	Elastine liée à la protéine	Ebps	Liaison à l'élastine
	Protéine analogue MHC	Map ou eap	Liaison à la protéine de la matrice extracellulaire (incluant fibronéctine ,

			fibrinogène vitronectine , sialoprotéine osseuse et thrombospondine).
	Adhésine intracellulaire polysaccharidique	Pla	Adhésion intracellulaire et formation de biofilm
	Protéine A	Spa	Invasion possible des défenses de l'hôte
	Polysaccharides capsulaire (type 1,5 et 8)	Cap	Molécule Anti- phagocytose
	Entérotoxines A- E.H	Sea-e,h	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes , responsables des diarrhées associées à la nourriture
	Syndrome du choc toxique toxine -1	Tst	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes responsables de TSS
	Toxine exfoliative A ,B	Eta ,etb	Invasion des défenses de l'hôte , agents responsables du syndrome de la peau ébouillante
	Lipase	Geh	Invasion des défenses de l'hôte
	Protéase V8	Sas P ou ssp	Invasion des tissus et modification des protéines de surface

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

B.3.6. 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].

B.3.7. 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 lésion 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 respect absolu des règles relative à l'asepsie et à l'antisepsie, rationalisation de l'emploi des antibiotiques à titre curatif et préventif [78].

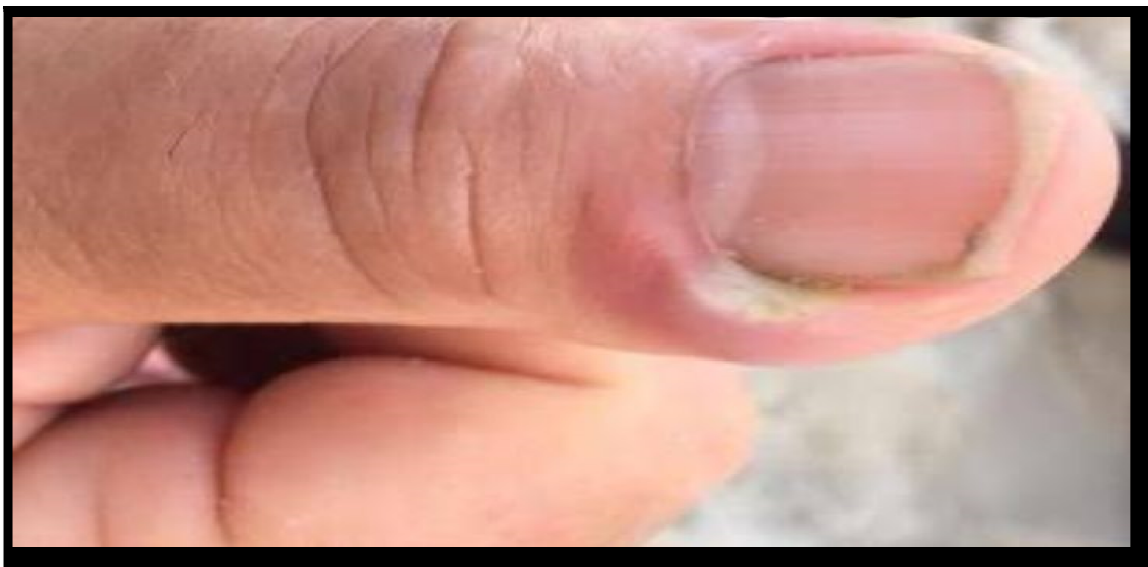


Figure 17 : l'antibiothérapie des infections à staphylocoques

Chapitre 03 :

Les antibiogrammes



Chapitre 03 : _____ Les antibiogrammes

Les Antibiogramme.

1. 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 à la pénicilline alors que la résistance à l'ampicilline 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].

2. 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. A 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

Chapitre 03 : ————— Les antibiogrammes

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 astreignante 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].

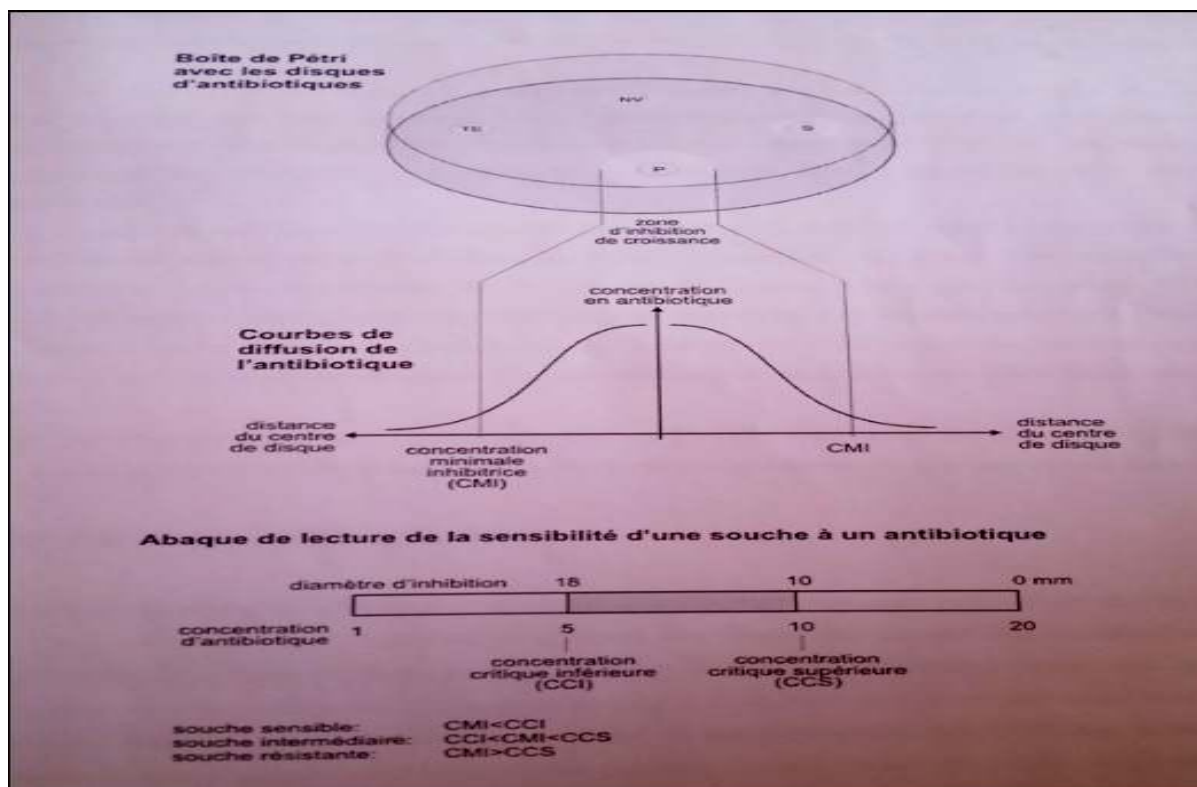


Figure 18 : Test de diffusion d'un antibiotique : détermination de l'efficacité des substances antimicrobienne

Chapitre 03 : _____ Les antibiogrammes

3. Choix de l'antibiotique.

3.1. 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, si staphylococcus aureus a développé rapidement une résistance à la pénicilline dès l'introduction du médicament en 1943 et qu'aujourd'hui près de 90% sont résistants à la pénicilline, aucune souche de Streptococcus pyogenes (streptocoque du groupe A) résistante à la pénicilline n'a été rapportée à ce jour.

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 Espagne par exemple, plus de 50% des Strepto-coccus pneumonie sont résistants à la pénicilline [81], en Corée 70% [82] et en Suisse moins de 10% [83].

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.

Après quelques années d'utilisation des fluoroquinolones par exemple, 90% des isolats cliniques de Staphylococcus aureus résistants à la méticilline (MRSA) sont aujourd'hui déjà résistants aux fluoroquinolones [84].

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].

3.2. 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

Chapitre 03 : ————— Les antibiogrammes

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 (méthicil-line, 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, céphalosporines) ne sont bien entendu pas testés, et de ce fait, pas retranscrits dans le tableau, car le laboratoire estime que les praticiens connaissent ces résistances. L'*Escherichia coli* est, lui, naturellement résistant aux macrolides (éry-thromycine), 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-lactamines) ; 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].

Chapitre 03 : ————— Les antibiogrammes

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'amoxicil-line + acide clavulanique.

3.3. Microorganismes résistants aux antibiotiques.

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

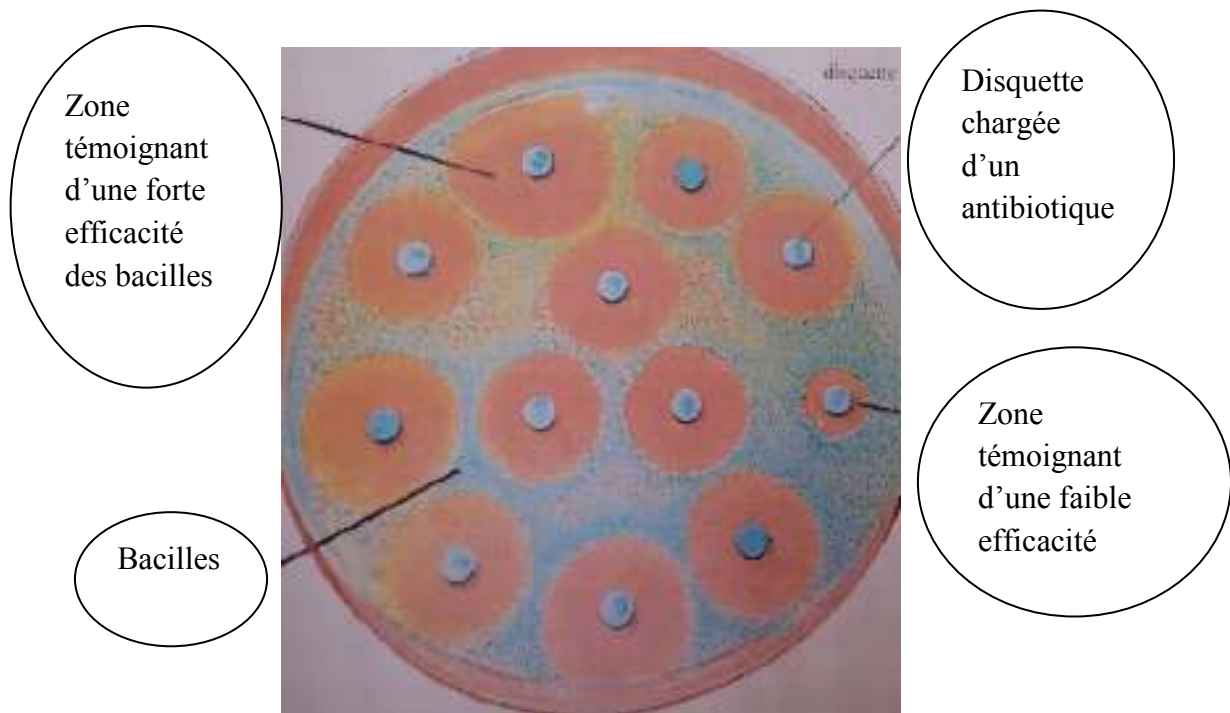


Figure 19 : Un antibiogramme

Chapitre 03 : _____ Les antibiogrammes

Tableau 05 : 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
Imipenem	S	S	S
Norfloxacine	R	S	S
Ofloxacine	R	S	S
Oxacilline	R	R	S
Pénicilline	R	R	R
Vancomycine	S	R	S

Chapitre 03 : Les antibiogrammes

Tableau 06 : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes \pm 1 écart-type calculés 400 tests).

Antibiotique	Charge	Escherichia coli	Pseudomona aeruginosa	Staphylococcus aureus	Providencia stuartii
	Du disque	CIP 7624	CIP 76110	CIP 7625	CIP 107808
Pénicilline G	6 μ g (10UI)	-	-	31,0 - 38,5	-
Oxacilline	5 μ g	-	-	27,0 - 34,0	-
Amoxicilline	25 μ g	22,0 - 26,5	-	-	6,0 - 7,0
Amoxicilline /ac. clavulanique	20/10 μ g	22,0 - 27,0	-	-	6,0 - 8,0
Ticarcilline	75 μ g	-	25,0 - 30,5	-	-
Pipéracilline	75 μ g	-	27,5 - 32,5	-	-
Céfalotine	30 μ g	18,0 - 23,0	-	-	6,0 - 6,5
Céfotaxime	30 μ g	32,5 - 37,7	-	-	25,0 - 32,0
Ceftazidime	30 μ g	-	25,5 - 31,5	-	-
Imipénème	10 μ g	-	24,5 - 29,5	-	-
Gentamicine	15 μ g (10UI)	22,0 - 26,5	15,5 - 22,5	24,0 - 28,5	13,0 - 17,0
Tobramycine	10 μ g	-	20,5 - 26,5	-	-
Amikacine	30 μ g	21,5 - 26,0	20,0 - 26,0	-	24,5 - 29,0
Acide nalidixique	30 μ g	25,5 - 30,5	-	-	-
Péfloxacine	5 μ g	29,0 - 35,5	-	25,5 - 29,5	6,0 - 7,5
Ciprofloxacine	5 μ g	31,0 - 38,0	29,0 - 36,5	-	17,5 - 22,5

Chapitre 03 : _____ Les antibiogrammes

Ciméthoprine / Sulfaméthoxazol (cotrimoxazole)	1,25/23,75 µg	25,5 - 30,5	-	28,0 - 32,5	-
Erthromycine	15 UI	-	-	26,0 - 31,5	-
Lincomycine	15 µg	-	-	24,5 - 29,5	-
Pristinamycine	15 µg	-	-	26,5 - 32,0	-
Rifampicine	30 µg	-	-	34,0 - 39,0	-
Acide fusidique	10 µg	-	-	28 ,5 - 34,5	-
Fosfomycine	50 µg	-		24,0 - 35,0	-
Colistine	50 µg	-	17,0 - 22,0	-	-
Vancomycine	30 µg	-	-	17,5 - 20,5	-

Partie Expérimentale



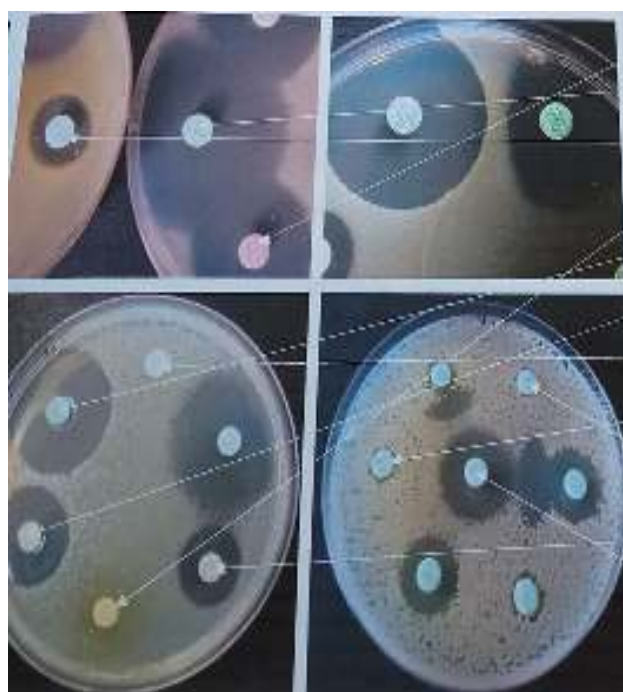
Partie Expérimentale

La première partie de notre stage pratique a été faite au laboratoire de l'université Abbes Laghrour khenchela. Ce laboratoire procède des équipements modernes en ce domaine, l'apprentissage des méthodes a été effectué en présence d'un docteur en bactériologie (qu'on remercie infiniment) qui nous a appris et expliqué toutes les techniques nécessaires pour effectuer un antibiogramme suivant les normes internationales.

Lors de notre stage on a profité de l'occasion pour visiter d'autres laboratoires (le laboratoire d'analyse chimique, analyse immunologique, hématologique anatomie pathologique...etc).

Le stage effectué a été planifié par notre enseignant et par notre administration qui a reçu un avis favorable par la direction du laboratoire de l'université Abbes Laghrour de khenchela.

Au niveau du laboratoire de bactériologie on a préparé dans des boîtes pétri des milieux de cultures (gélose glucosé, milieu Chapman, milieu Hilton) une fois les différents milieux préparés on a récupéré des souches de plusieurs sources de staphylocoques aureus et Escherichia coli qui se sont développées dans un milieu physiologique (isotonique concentration en NaCl 9 grammes par litre). Après ceux-là une fois les souches activées on a procédé à des ensemencements sur les différents milieux de cultures. Dès que les souches ont commencé à se développer, on a déposé les différentes pastilles d'antibiotiques commerciaux 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 CO₂ pendant 18 à 24 heures.



Pastille céphalosporine
Pastille oxacilline
Pastille pénicilline G
Pastille pénicilline V
Pastille extencilline
Pastille gentamicine
Pastille ampicilline
Pastille amoxicilline
Pastille clarytomycine
Pastille bipénicilline

Figure 20: Lecture des ATBG en utilisant les pastilles commerciales d'ANB sur différents milieux

Partie Expérimentale

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

Après ce stage qui a duré 15 jours, on a repris les mêmes travaux et les mêmes techniques effectués au laboratoire central de l'université Abbes Laghrour de Khenchela. En utilisant les mêmes techniques acquises, en sachant que les pastilles d'antibiotique sont fabriquées avec nos propres moyens au laboratoire de notre université.

Pour ce la on a choisie 5 antibiotiques de la famille de β -lactamine plus spécialement des pénicillines G qui ont probablement des propriétés chimique et pharmaceutique différentes.

Vert \rightarrow pénicilline G, date de fabrication en 08/03/2001 par une firme X1.

Violet \rightarrow Pénicilline G, date de fabrication en 14/09/1993 par une firme X1.

Bleu \rightarrow pénicilline G sodique, date de fabrication en 08/04/2008 par une firme X1.

Orange \rightarrow pénicilline G, date de fabrication en 12/10/2007 par une firme X 2.

Blanc \rightarrow pénicilline G, date de fabrication en 14/02/2008 par une firme X 3.

Ces antibiotiques se présente ce plusieurs forme galéniques à savoir poudre (pour la voie parentérale) et comprimé (pour la voie orale), alors pour le cas des antibiotiques en poudre ces derniers sont directement introduit dans une solution d'éthanol à 90° vol mais pour la forme comprimé nous étions obligé de faire un broyage dans un mortier-pilon à fin de le réduire à l'état poudre à fin de faire une répartition homogène et vaincre le gradient de concentration.

Le mélange d'antibiotique solution d'éthanol sont étalé dans une boite pétri avec un malaxage en continu.



Figure 21 : préparation des pastilles à la pénicilline G (différentes dates de fabrication)



Figure 22 : Technique de préparation des pastilles.

Application des pastilles.

Une fois les pastilles aux antibiotiques sont bien préparé et séché a les étuves pour un éventuel évaporation du solvants qui a servie initialement, on entame l'application de ces dernières sur les souches fraîchement développée.

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

On en déduire que les antibiotiques utilisé n'ont aucun effet d'inhibition sur le développement des staphylocoques aureus par conséquent aucune sensibilité a soulevé. On conclut alors que les antibiotiques utilisés n'ont pas été le bon choix pour effectuer ces travaux, car d'après une recherche bibliographique fraîchement faite, afin de trouver une solution à ce problème, on en déduit que le staphylocoque a déjà développé une résistance acquise suite a des mutations récentes.

Cet obstacle nous a poussés à changer la souche de staphylocoque aureus par une autre souche fraîchement préparé de streptocoque. Alors la, dans les mêmes conditions précédente on a appliqué les pastilles déjà préparé sur la nouvelle souche de streptocoque, après 24 heures on remarque finalement l'apparition des zones d'inhibition important pour les pastilles orange, blanche et verte al ors pour les pastilles bleu et violette ne montrent aucune sensibilité significative.

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.

Référence Bibliographique

Liste de références

- [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 des médicaments, 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 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.

Référence Bibliographique

- [16] Antibioïdige 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 β -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-resistant *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.
- [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 β -lactamines. Rev Med Suisse. P 836–42.
- [31] **Duciv. Dr.** (2007). Marie Célar Laboratoire de Microbiologie Hôpital Louis Pradel Lyon.

Référence Bibliographique

- [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 bacterialcell division. Ann N Y AcadSci, p 1277:8–28.
- [36] Le microbiote intestinal : un organe à part entière. (2016). Availablefrom: <http://www.microbiote-intestinal.fr/description-du-microbiote>
- [37] **Sears. CL.** (2005). A dynamicpartnership:Celebratingourgutflora. Anaerobe, p 247–51.
- [38] **Cabeen. MT, Jacobs-Wagner. C.** (2005). Bacterialcellshape. Nat RevMicrobiol, p 601–10.
- [39] Université Médicale Virtuelle Francophone. Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie - Structure. (2016). Availablefrom: http://campus.cerimes.fr/microbiologie/enseignement/microbiologie_4/site/html/cours.
- [40] **Salton. MRJ, Kim. KS.** (1996).MedicalMicrobiology. 4th edition. In: Baron S, editor.MedicalMicrobiology . 4th ed. Galveston (TX). University of Texas Medical Branch at Galveston. Availablefrom: (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 RevMicrobiol , p 123-140
- [44] **Ségoène. M.** (2016). Caractérisation de souches d'escherichia coli pathogenes urinaires provenant de guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence presents, p 1.
- [45] **Gordon. DM, Cowling. A.** (2003).The distribution and geneticstructure ofEscherichiacoliin Australianvertebrates: host and geographic effects. Microbiology, p 149(12):3575-86

Référence Bibliographique

- [46] Lefebvre. P, Rigo. JM, Leprince. P, Rogister. B, Delrée. P, Hans. P, Born JD, Moonen. G.(2018).Agressologie : revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression.Disponiblesur:<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 centerotypes at the intra-species level. MicrobiolOpen, p 4(4):604-15.
- [48] Darcan. C, Ozkanca. R, Idil. O, Flint. KP. (2009). Viable but non-culturable state (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] Pommepuy. 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.

Référence Bibliographique

- [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/>
- [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.
- [69] Organisation mondiale de la santé. Malnutrition : prévention de la malnutrition par la promotion de bonnes pratiques d'hygiène alimentaire. Module 7. P 27

Référence Bibliographique

- [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
- [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 mucoviscidoseuses 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.
- [80] **Takouachet. R, Kabouche. Z.**(2008). Analyse et contrôle des bêta-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 » 2ème éd. Blackwell.
- [82] Le moteur de recherche des substances. En ligne sur le site du Vidal.

Référence Bibliographique

[83] « La maladie du charbon 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.

المخلص :

تعد الكيمياء والبيولوجيا اليوم جزءًا من بيئتنا اليومية ، حيث يقع هذان التخصصان على مفترق طرق للعديد من الصناعات والعديد من القطاعات ، مثل الصيدلة والأغذية الزراعية والبيئة والتكنولوجيا الحيوية ، وتشكل العديد من المجالات في أي المتخصصين في الكيمياء والبيولوجيا يقومون بأنشطتهم.

تشكل الطرق التجريبية العمود الفقري لهذا العمل ، وعلى وجه الخصوص تقنيات تحضير الحبيبات ، التي يتم تنفيذها بدقة وفقًا للمعايير الدولية. بالإضافة إلى ذلك ، فإن نماذج المضادات الحيوية التي تمت دراستها في هذه الأطروحة توفر صياغة أكثر دقة للمقاومة وتُقرح إضفاء الطابع الرسمي على التفاعل بين البكتيريا والمضادات الحيوية. تعزز نتائج هذه التحليلات فكرة أن العدوى لا تزول أبدًا بالتعرض المتعدد للمضادات الحيوية ، ولكن إذا قمنا بدمج مزايا المضادات الحيوية مع تلك التي توفرها الأدوية المضادة للفوعة ، نظرًا 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 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.

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.

Absract :

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 thesis 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.