



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

**Mme. BELLAKHDAR Siham
et
Mme. GHOZLENE Khedidja**

**DOMAINE : Science de la Nature et de la Vie (S.N.V)
FILIERE : Biologie
OPTION : Microbiologie Environnementale et Infectieuse**

Thème

**Antibiothérapie des infections causées
par *Proteus mirabilis***

Jury de soutenance :

Membre 1 Becheur morad
Membre 2 Gacem mohamed
MOKHTAR Rahmani Mohamed

Maître Assistant classe A Président
Maître Assistant classe A Examinateur
Maître Assistant classe A Rapporteur

Promotion : Juin – 2016

DÉDICACE

AVEC L'AIDE D'ALLAH, J'AI PU RÉALISER CE MODESTE TRAVAIL :

À TOI LA LAUANGE O LA LUMIÈRE DES CIEUX DE LA TERRE ET DE CE QU'ILS RENFERMENT GLOIRE À TOI DE NOUS AVOIR ASSISTÉES DE TA LUMIÈRE ET EN TOUTE CIRCONSTANCE MATIN ET SOIR

À MA MERE BEN BARTAL AICHA

À MON PÈRE MOHAMED

À MON MARI CHOUCHA KHALED

À MA PETITE FILLE FATIMA ZOHRÀ

À MA CHÈRE AMIE KHEDIDJA GHOZLANE QUI MA AIDÉE LE LONG DE CE TRAVAILLE.

À MES FRÈRES ET SŒURS AINSI QU'À, MES ONCLES ET TANTES, COUSINS ET COUSINES MAIS AUSSI MES AMIS PROCHES QUI TOUS ENSEMBLES CONSTITUENT MON ÉQUILIBRE, ET MES RACINES.

ET À MON CHER ÉPOUX

À TOUS LES PROFS DE TOUT MON CURSUS

À MES AMIES: FATIMA AMINA SARA

À TOUS MES COLLÈGUES.

BELLAKHDAR SIHAM



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mon marie Mouhamed Benquit qui m'a indiqué la
bonne voie et qu'il m'a aidé avec ses meilleures consignes
pour arriver au point.*

*A mes chers parents qui sont ma source d'inspiration,
qui m'ont toujours aidé et soutenu.*

*A mes chers sœurs Fatima , Soumia , Hadjer ,
Meriem.*

*A ma chère amie siham bellakhdar qui ma aidée le
long de ce travaille.*

*A mes petits enfants Youcef , Ibrahim , Ismail
.Nour*

Ghozlane khedidja

Remerciements

Je remercie avant tout DIEU le Tout Puissant qui m'a donné la force et la patience pour mener à bien ce travail

Mes remerciements s'adressent à mon encadreur, Mr Mokhtar Rahmani Mohamed maitre-assistant à université de Laghouat, pour la disponibilité, la patience, les conseils qu'il nous a prodigués, et pour tout le temps et l'énergie qu'il a consacré à la réalisation de ce travail.

Je remercie sincèrement les membres de jury : M Becheur MORAD pour avoir accepté la présidence de notre jury. J'exprime aussi ma reconnaissance à Mr Gacem Mohamed Lamine Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Bellkhdar Sham

Ghozlen Kédidja

Table de matières

Liste De Tableaux.....	IV
Liste Des Figures.....	V
Liste D'abreviation.....	VI
Introduction	01
Chapitre I : Etude Bacteriologique De <i>Proteus Mirabilis</i>	03
I.1 - Introduction	03
I.2- Hystorique	03
I.3-Classification Des <i>Proteus</i>	04
I.4- Etude Bacteriologique De <i>Proteus Mirabilis</i>	04
I.4.1- Caracteristiques Generaux	04
I.4.2-Ecologie Et Habitat.....	04
I.4.3- Pouvoir Pathogenes Chez L'homme	05
I.4.4- Caracteres Bacteriologiques	05
I.5- Pathogenese	06
Chapitre II : Les Antibiotiques.....	08
II.1-Introduction.....	08
II.2- Histoire Des Antibiotiques.....	08
II.2.1-La Theorie Des Germes.....	08
II.2.2-Les Premiers Antibiotiques	09
II.2.3- Fleming Et La Penicilline.....	09
II.2.4-La Streptomycine.....	10
II.3- Definition Et Origine Des Antibiotiques.....	11
II.3.1- Cibles Bacterienne Des Antibiotiques	11
II.3.2-Paramètres Pharmacodynamiques	12

Table de matières

II.4- La Resistances Aux Antibiotiques	13
II.4.1- Définition De La Resistances Aux Antibiotiques	13
II.4.2-Les Mécanismes De La Resistances Aux Antibiotiques	15
II. 4.3- Les Mecanismes Biochimiques De La Resistance Acquise	16
II. 4- Selection Et Diffusion Des Bacteries Resistantes	19
II. 5- La Multi-Resistance	19
II. 6- Resistance De Proteus Mirabilis	20
II. 6- 1- Resistance Naturelle	20
II. 6- 2- Resistance Acquise	21
II.7-Association D'antibiotiques	21
II.7.1- Definition De L'association D'atb	21
II.7.2- Les Interets De L'association D'atb	22
II.7.3- Les Regles D'associations Des Antibiotiques.....	24
II.7.4-Les Bacteries Necessitants Une Association D'atb	25
II.7.5- Mecanisme De Synergie Et Antagonisme Des	25
II-Conclusion.....	27
Chapitre III : Matériels Et Methodes.....	28
III 1.Le But Du Travail	28
III.2. Matériel Utilisé.....	28
III.3.Les Methodes Utilisees	29
III.3.1.Identification Des Isolats	29
III.3.2.Détermination De La Cmi	29
III.3.3. La Methode De L'echiquier (Checkeboard)	30
V. Chapitre Vi : Resultats Et Discussion	34
V.1. Les Resultat	34
V.1.1 Identification Des Isolats	34
V.1.2 Calcul De La CMI	35

Table de matières

V.1.3.Résultats De L'échiquier D'isolat De <i>Proteus Mirabilis</i> (Poulet De Chair).....	36
V.1.3.Résultats De L'échiquier D'isolat De <i>Proteus Mirabilis</i> (Poule Pondeuse).....	36
Conclusion Générale	46
Référence Bibliographiques.....	47
Les annexes	
Resumé	

LISTES DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
01	Représentation de l'arrangement des tubes dans la méthode de l'échiquier	31
02	la préparation des solutions d'ATB stérile	32
03	La CMI de <i>Proteus mirabilis</i> (poulet de chair)	36
04	La CMI de <i>Proteus mirabilis</i> (poule pondeuse)	36
05	Résultat de l'association la peneciline G (CMI= 4µg/ml) et l'ampicilline. (CMI=2µg/ml) sur la croissance de <i>Proteus Mirabilis</i>	37
06	Résultats de l'association de la pénicilline G (CMI=4µg/ml) et de la céfazoline (CMI=4µg/ml) sur la croissance de <i>Proteus Mirabilis</i>	38
07	Résultats de l'association de l Amoxi (CMI=8µg/ml) et de la céfazoline (CMI=4µg/ml) sur la croissance de <i>Proteus Mirabilis</i>	39
08	Résultats de l'association de l Amoxi (CMI=2µg/ml) et de l Ampi(CMI=4µg/ml) sur la croissance de <i>Proteus Mirabilis</i>	41
09	Résultats de l'association de l Ampi (CMI=4µg/ml) et de Cefa(CMI=4µg/ml) sur la croissance de <i>Proteus Mirabilis</i>	42

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
01	motilité dans <i>Proteus Mirabilis</i>	06
02	diagramme montrant des protéines produites par <i>P. mirabilis</i> .	07
03	Imperméabilité chez Gram -	16
04	<i>Modification de la cible de l'antibiotique</i>	17
05	modification de l'antibiotique	18
06	L'efflux des antibiotiques	19
07	<i>Proteus Mirabilis</i> sur milieu hektoen	34
08	<i>Proteus Mirabilis</i> sur milieu hektoen	34
09	Résultat de Galerie Api20E d'un isolat	35

Liste des abréviations

- ATB** antibiotique
- AMOXI** Amoxicillin
- AMPI** Ampicilline
- ADH** : Arginine-dishydrolase.
- API** : Analyse prophylactic Index
- BHIB** Bouillon coeure-cervelle
- CEFA** : céfazoline
- CMI** : concentration minimale inhibitrice
- °C : degré Celsius.
- EDS** : eau distillé stérile
- FIC** : fraction inhibitory concentration
- g** : gramme.
- IgG** : immunoglobuline G
- LDC**: Lysine-décarboxylase.
- ml** : millilitre
- MH** : Muller Hinton
- ODC**: ornithine-décarboxylase.
- PBP** : penecillin binding protein
- PONG**: orthonitrophényle-B-Dgalactopyranoside.
- P Mirabilis*** : *Proteus Mirabilis*
- PEN G** : pénicilline G
- PLP** : protéine de liaison aux pénicillines
- TDA**: désaminase du tryptophane. Etphénylalanine
- UTI** : Infection de tractus urinaire
- VB1** : vitamine B1

Liste des abréviations

INTRODUCTION

Les infections urinaires de l'adulte représentent un motif très fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. Les voies urinaires représenteraient en effet, le second site d'infection bactérienne communautaire après l'appareil respiratoire (Tassouikat, 2014).

Les infections du tractus urinaire sont souvent dues à des entérobactéries principalement *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus spp* (Lo *et al.*, 2012). *P. mirabilis* peut alcaliniser les urines et être responsable de lithiases grâce à son uréase puissante. Ces lithiases se comportent comme du matériel étranger qui permet à l'infection de devenir chronique, entraînant ainsi une destruction progressive du parenchyme rénal.

L'antibiothérapie des infections urinaires a pour but l'éradication des germes dans le tractus urinaire normalement stérile. Pour être efficace, l'antibiotique choisi doit remplir plusieurs critères : l'efficacité microbiologique sur la bactérie en cause et la bonne diffusion dans le site de l'infection. Il doit aussi être bien toléré, peu toxique, d'administration facile et si possible peu onéreux.

Initialement, le choix de l'antibiothérapie est souvent probabiliste : il tient compte de l'épidémiologie bactérienne habituelle des infections communautaires ou associées au soin de l'appareil urinaire (type de bactérie, sensibilité aux antibiotiques), des traitements antérieurs reçus par le patient et des données cliniques (existence de signes de gravité, facteurs de risque de complications ou non, site de l'infection). Après identification du germe, le choix de l'antibiotique doit être adapté à l'antibiogramme en choisissant un antibiotique efficace, à bonne diffusion et avec un spectre le plus étroit possible (Chaussade *et al.*, 2013).

L'émergence et la diffusion des mécanismes de résistance acquise au sein des espèces bactériennes limitent aujourd'hui les indications d'un certain nombre d'antibiotiques de première intention. La surveillance de ces mécanismes de résistance est nécessaire pour vérifier la validité des protocoles de traitement de première intention et de proposer d'éventuelles mesures susceptibles de contrôler cette évolution.

Les profils étiologiques et de sensibilité aux antibiotiques des bactéries sont susceptibles de varier dans l'espace et le temps d'où l'importance d'une surveillance régulière.

INTRODUCTION

Les souches multirésistantes de *P. mirabilis* produisent généralement à spectre étendu des β – lactamases ou de la céphalosporinase AmpC – type et des carbapénèmases rarement, et leur prévalence dans certains milieux est relativement élevé (Mok Sohn et *al.*, 2010).

Le but de notre travail est d'étudier les combinaisons d'antibiotiques efficace contre *Proteus Mirabilis* et cela pour les antibiotiques suivant : Céfazoline, ampicilline, pénicilline G et Amoxicilline.

Notre étude comporte quatre chapitres. Le premier présente une étude bactériologique de *Proteus Mirabilis*. Le deuxième chapitre présente un rappel sur les antibiotiques, quant au troisième chapitre, il présente les matériel et méthodes. S'ensuit un quatrième chapitre dédié aux résultats et discussion. Le tout est couronné par une conclusion et des recommandations.

CHAPITRE I : ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE *PROTEUS MIRABILIS*

I.1 - INTRODUCTION

Proteus mirabilis est une bactérie qui se trouve dans le tube digestif humain. Bien que ce soit une partie de la composition normale de l'intestin humain, il peut également provoquer des problèmes graves, tels que divers types d'infections du tube digestif. Les infections urinaires sont la manifestation la plus fréquente des infections à *Proteus*.

Proteus mirabilis provoque approximativement 90% des infections à *Proteus* et est considérée comme une infection contagieuse (1).

I.2- HISTORIQUE

Proteus mirabilis a d'abord été découvert par un pathologiste allemand nommé Gustav Hauser (Williams et Schwarzhoff, 1978). Hauser a nommé ce genre *Proteus*, après le caractère dans l'Odyssée d'Homère qui était bon à changer de forme et de se soustraire à être interrogé (Williams et Schwarzhoff, 1978), un nom qui semble en relation avec une étrange capacité de cet organisme d'éviter le système immunitaire de l'hôte.

P. mirabilis est une bactérie en forme de bâtonnet Gram négatif qui peut être trouvé dans le cadre de la microflore dans l'intestin humain. Cet organisme est un pathogène qui est généralement inoffensif, mais qui devient un problème quand il entre en contact avec de l'urée dans les voies urinaires. A partir de là, l'infection peut se propager à d'autres parties du corps. Elle est l'une des espèces du genre *Proteus* responsable de causer des infections des voies urinaires chez des milliers de personnes chaque année dans les hôpitaux. *P. mirabilis* est responsable pour la plupart des infections des voies urinaires qui surviennent en milieu hospitalier et quatre-vingt dix pour cent des infections *Proteus* (Gonzalez, 2006). Ses codes du génome pour au moins 10 facteurs d'adhésion rendant cet organisme extrêmement collant et motile. *P. mirabilis* teste indole-négatif et il peut être facilement identifiable dans une plaque de gélose au sang par la formation d'anneaux concentriques de son mouvement d'essaimage (Lund et *al.*, 1975).

Les infections des voies urinaires (IVU) sont très douloureuses et peuvent devenir mortelles si l'infection se propage à d'autres systèmes dans le corps. Après la pneumonie, les infections des voies urinaires sont le problème le plus fréquent chez les patients hospitalisés à long terme. Ces infections sont de plus en plus difficiles à traiter parce que

Proteus Mirabilis

quarante-huit pour cent de *P. mirabilis* souches sont résistantes à l'amoxicilline, la pénicilline, les fluoroquinolones et d'autres antibiotiques de l'activité à large spectre.

Le pH de l'urine est habituellement neutre ou légèrement acide, mais lorsque le patient porte un cathéter pour des périodes prolongées, de dépôts cristallins de temps à partir de l'urine forment une croûte autour du cathéter et obstrue l'urine de se déplacer à travers l'urètre. Les cristaux incrustés sur le cathéter donnent à *Proteus mirabilis* la possibilité de coloniser en grand nombre et d'hydrolyser l'urée, ce qui augmente le pH de l'environnement grâce à la production ou de l'ammoniac (Stickler et al., 2004).

I.3-CLASSIFICATION DES PROTEUS

Regne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales* .

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Proteus*

Espèce : *Proteus mirabilis*

(Garrity et al., 2005)

I.4- ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE *PROTEUS MIRABILIS*

I.4.1- Caractéristiques générales

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles (en forme de bâtonnets) Gram négatif aérobies mobiles qui font partie de la famille des entérobactéries. Les entérobactéries mesurent habituellement de 0,3 à 1,0 µm de large par 0,6 à 6,0 µm de long. Il s'agit de bactéries uréase positives capables d'essaimage lorsqu'elles sont cultivées en milieu solide. Elles font partie de la flore gastro-intestinale normale de l'humain. (Abbott, 2007).

I.4.2-ECOLOGIE ET HABITAT

P. mirabilis peut être trouvé comme un micro-organisme vivant librement dans le sol et l'eau. Elles sont normalement trouvées dans le tractus gastro-intestinal de l'être humain (Coker et coll., 2000). Certains pensent que *P. mirabilis* à accès à la vessie en infectant la zone péri – uretrale (Coker et al., 2000). *P. mirabilis* provoque des infections des voies urinaires principalement par cathéters. Habituellement, l'appareil urinaire peut se débarrasser du microbe avant qu'il accumule, mais le cathéter empêche que cela se

produise. *P. mirabilis* peuvent ensuite adhérer à l'intérieur et l'extérieur du cathéter, formant des communautés de biofilms. Une fois établies, ces microbes passent à travers l'urètre par l'intermédiaire d'essaimage de la motilité de la vessie. *P. mirabilis* se lie à des cellules épithéliales de la vessie où il siège éventuellement (Coker et al., 2000). *P. mirabilis* infection peut aussi conduire à la production de reins et la vessie pierres. Les bactéries colonisent les pierres qu'ils forment, en les rendant moins accessible à l'attaque des antibiotiques (Pearson et al., 2008).

I.4.3- POUVOIR PATHOGENE CHEZ L'HOMME

- *Proteus mirabilis* peut être responsable d'infections urinaires communautaires ou nosocomiales. grâce à son uréase puissante qui peut alcaliniser les urines et être responsable de lithiases. Ces lithiases se comportent comme du matériel étranger qui permet à l'infection de devenir chronique, entraînant ainsi une destruction progressive du parenchyme rénal.
- Il peut provoquer des infections localisées surtout cutanées. Mais d'autres localisations sont possibles (abcès du cerveau, infections pleurales et péritonéales, infection de cathéter.....)
- Infections des voies respiratoires surtout en milieu hospitalier : infections ORL et pneumopathies.
- Septicémies et bactériémies: l'isolement de cette bactérie est possible dans les : - urines - pus divers - hémocultures - selles)

I.4.4- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

a) Caractères morphologiques et culturels

Les *Proteus spp.* sont des bacilles à Gram négatif, très généralement mobiles (Figure 01), polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 10 µm à 80 µm de longueur. En milieu gélosé. *P. mirabilis* et *P. vulgaris* peuvent envahir la surface de milieu en formant des ondes concentriques. Cet essaimage ou swarming, est dû à la grande mobilité de la bactérie.

L'envahissement des cultures par les *Proteus* peut être réduit par la présence dans le milieu des sels biliaires ou de détergents, par accroissement de teneur en gélose ou par une diminution de la teneur en NaCl (milieu CLED) (Avril et al., 2000).

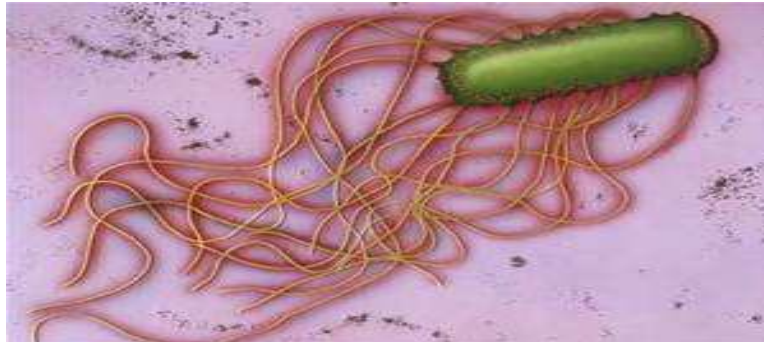


Figure 01 : motilité de *Proteus mirabilis* (Nicole 2013).

b) Caractères biochimiques

Les *Proteus* sont caractérisés par leur uréase très active, la production d'H₂S, d'une gélatinase et leur pouvoir glucidolytique faible (Sougakoff et *al.*, 2003 ; Avril et *al.*, 2000).

- Fermentation des sucres: glucose (+) ;
- Réduction des nitrates en nitrites: NO₃⁺ ;
- Métabolisme du tryptophane en indole: indole (-) ;
- ONPG (-) ;
- Ornithine décarboxylase: ODC (+) ;
- TDA (+).

I.5- Pathogénèse

Comme beaucoup d'autres agents pathogènes, *P. mirabilis* a évolué de nombreux facteurs de virulence qui sont importants pour provoquer des UTI et plusieurs de ces facteurs semblent être plus importants pour établir l'infection dans les différentes parties des voies urinaires (Figure 02). Ces facteurs comprennent l'adhésion à accueillir des surfaces muqueuses, les dommages et l'invasion des tissus hôtes, l'évasion des systèmes immunitaires de l'hôte, et l'acquisition du fer. Il y a, ainsi, des facteurs de virulence qui sont cruciaux pour la colonisation réussie de l'appareil urinaire.

L'expression de ces facteurs de virulence est très probablement spatialement et temporellement régulée. La bactérie doit gagner l'entrée à l'appareil urinaire par l'urètre, Voyage vers et coloniser la vessie, monter des uretères aux reins, coloniser les reins et

Proteus Mirabilis

maintenir l'infection. Dans certains cas, ce micro-organisme peut, avoir accès à des capillaires et établir des bactériémies.

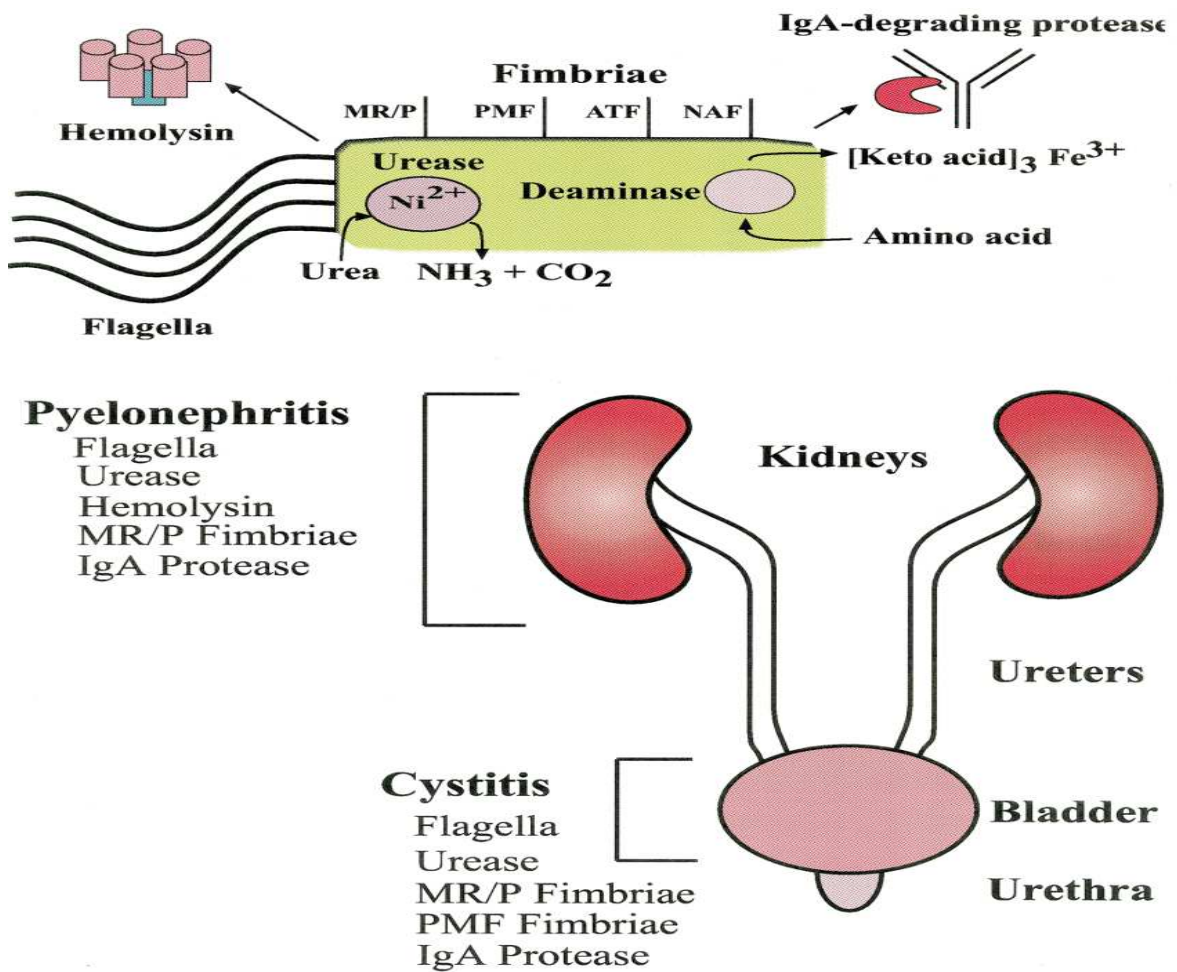


Figure 2 : diagramme montrant des protéines produites par *P. mirabilis* qui sont connus ou hypothétiques comme facteurs de virulence important dans l'appareil urinaire (Coker *et al.*, 2000)

CHAPITRE II : LES ANTIBIOTIQUES.

II.1-INTRODUCTION

Parmi l'ensemble des médicaments, les antibiotiques sont sans aucun doute ceux qui sont le plus largement associés à la révolution médicale du XXe siècle. Parfois qualifiés de « traitements miraculeux », ils ont contribué à l'idée que la science pouvait vaincre toutes les maladies. Hélas, cette certitude n'est plus d'actualité : les maladies infectieuses, notamment virales, restent au premier rang des causes de décès dans le monde et les antibiotiques ont montré d'inquiétantes limites depuis une dizaine d'années. Leur usage impropre ou excessif a multiplié les cas de résistance bactérienne, rendant de plus en plus difficile le traitement de certaines infections (Vidal, 2015).

II.2- HISTOIRE DES ANTIBIOTIQUES

II.2.1-LA THEORIE DES GERMES

L'utilisation des plantes et autres produits naturels pour lutter contre les maladies remonte à l'aube des temps. Les propriétés antiseptiques de certaines plantes étaient utilisées de façon empirique dans les pharmacopées traditionnelles.

Les Égyptiens distribuaient, par exemple, de l'ail aux ouvriers des pyramides pour les revigorer et les protéger.

Les Chinois employaient une forme d'immunisation par laquelle ils inhalaient des poudres séchées provenant des croûtes de lésions causées par la variole, aux alentours de l'an 1000. Mais c'est seulement à la fin du XIXe siècle que le lien entre les maladies et les microbes a été établi, et que les notions d'immunisation, d'antitoxines et de bactériophages sont apparues.

En 1875, Cohn publia une classification de bactéries dans laquelle il utilisait pour la première fois la classification *Bacillus*.

En 1879, Neisser attribua la blennorrhagie à un microbe. En 1880, Louis Pasteur atténua l'effet de certains agents pathogènes virulents afin qu'ils servent à immuniser contre des maladies plutôt qu'à en causer. En 1886, Theobald Smith démontra qu'il n'était pas nécessaire que les micro-organismes soient viables pour provoquer leur capacité de protection. En 1890, von Behring et Kitasato mirent en évidence que des antitoxines étaient présentes dans le sang d'individus qui se rétablissaient d'un épisode de diphtérie(2).

En 1915, Twort découvrit les bactériophages. Ces découvertes successives posèrent les bases de la médecine moderne. L'acceptation de plus en plus générale de cette « théorie des germes » allait permettre quelques années plus tard la découverte des antibiotiques(2).

II.2.2-LES PREMIERS ANTIBIOTIQUES

En 1889, l'Allemand Rudolf Emmerich fut le premier à effectuer des essais cliniques sur une substance antibiotique, la pyocyanase.

Découvert par hasard un an auparavant, cet actif avait la capacité de détruire de nombreuses bactéries pathogènes, dont celles de la fièvre typhoïde, du charbon, de la diphtérie, de la peste et des abcès cutanés. Mais l'intérêt soulevé par cette découverte retomba rapidement, le médicament se révélant instable et toxique. Il fut cantonné à des utilisations externes sous forme de pommade pour les dermatoses.

Quelques années plus tard, Paul Ehrlich obtint de bons résultats sur la syphilis avec un colorant associé à de l'arsenic, le salvarsan.

Mais la toxicité de la substance et ses effets secondaires importants relativisèrent cette efficacité.

Le milieu médical fourmillait alors de découvertes ponctuelles, d'essais cliniques, de pistes explorées puis abandonnées. La chimiothérapie semblait devoir émerger comme une révolution dans l'art de traiter les maladies, mais il restait encore aux médecins à trouver le médicament « miracle », à la fois efficace et sans effets négatifs, car l'enthousiasme du public risquait de disparaître(2).

II.2.3- FLEMING ET LA PENICILLINE

De nombreuses personnes doivent leur survie à la pénicilline, soit directement, soit parce que cette substance « miracle » a sauvé la vie de leurs parents ou grands-parents.

En 1887, le Français Ernest Duchesne fut le premier à remarquer le pouvoir antibactérien des moisissures du genre *Penicillium* et à envisager des possibilités thérapeutiques. Mais son travail, encore trop précurseur, n'eut pas de suite.

En 1928, à l'hôpital Sainte-Marie de Londres, le docteur Alexander Fleming redécouvrit ce phénomène. Alors qu'il effectuait des recherches sur les staphylocoques, il remarqua dans l'une de ses boîtes de Petri – ces petites boîtes rondes utilisées pour tester la toxicité d'un produit sur une souche de bactéries que les colonies de staphylocoques proches de la moisissure *Penicillium* étaient mortes. Il fut le premier à publier un article sur les effets antibactériens de la pénicilline(2).

Quelques années plus tard, Howard Florey, Ernst Chain et Norman Heatley étendirent les travaux de Fleming ; ils réussirent à faire produire et à purifier la pénicilline, prouvant ainsi son intérêt en tant que médicament. Alors que leurs recherches commençaient à être couronnées de succès, la Seconde Guerre mondiale fut déclarée. Le projet fut déplacé aux États-Unis pour le préserver des bombardements allemands, et les travaux s'orientèrent vers la fabrication en grandes quantités de la moisissure produisant la pénicilline. L'objectif était de pouvoir fournir un médicament pouvant traiter les nombreux blessés dus à la guerre(2).

Le monde entier parla alors de la pénicilline et de ses effets miraculeux. Dans l'inconscient collectif, les antibiotiques commencèrent à devenir le remède aux maladies infectieuses.

II.2.4-LA STREPTOMYCINE

La fin de la Seconde Guerre mondiale vit l'apparition d'un autre antibiotique célèbre, la streptomycine.

Produite par un micro-organisme vivant dans le sol, *Streptomyces griseus*, cette substance fut découverte par Waksman en 1943. Elle se révéla efficace contre les bactéries de certaines infections courantes, de la méningite et, surtout, de la tuberculose.

La streptomycine fut le premier véritable médicament capable de lutter efficacement contre cette maladie chronique, souvent fatale à l'époque.

C'est avec la streptomycine que les premiers phénomènes de résistance furent découverts. Certaines bactéries devenaient résistantes au cours même du traitement, ce qui ne s'était encore jamais remarqué. Comme, par ailleurs, la streptomycine avait des effets secondaires importants à hautes doses, les chercheurs essayèrent de trouver des substances chimiquement proches, ce qui conduisit à la découverte de la néomycine.

À partir de là, les chercheurs du monde entier n'eurent de cesse de trouver de nouveaux antibiotiques et de créer des variétés de semi-synthèse à partir des souches existantes, dans le but d'une plus grande efficacité.

En parallèle, les bases de la médecine moderne, avec son cortège de consommation excessive d'antibiotiques, étaient posées. Sous les pressions croisées du public, des laboratoires pharmaceutiques et des pratiques médicales, la surconsommation d'antibiotiques prenait son essor (2).

II.3- DEFINITION ET ORIGINE DES ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes). Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.1- CIBLES BACTERIENNE DES ANTIBIOTIQUES

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes.

Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en 5 groupes, en fonction de leur cible pharmacologique (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.1.1-ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LA PAROI BACTERIENNE

Les cellules eucaryotes animales ne possèdent pas de paroi. Les bactéries par contre sont entourées d'une coque en peptidoglycan, polymère de sucres réticulé par des ponts de nature peptidique. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons

- les β -lactames, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi;
- les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse;
- quelques molécules d'intérêt mineur (fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide fusidique, polymyxine et, dans une certaine mesure, la néomycine) (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.1.2-ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LA SYNTHÈSE PROTÉIQUES

Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents [70S pour les ribosomes procaryotes (50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la sous-unité légère) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la sous-unité lourde et 40S pour la sous-unité légère)].

Il existe des inhibiteurs:

- de la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines) (Van Bambeke et *al.*, 2008).

- de la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides; voir note sur la spécificité de l'action des tétracyclines à ce chapitre).

II.3.1.3- ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LE METABOLISME DES ACIDES NUCLEIQUES ET DE LEURS PRECURSEURS

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones. Ces 2 familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.

- Les sulfamidés agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

- Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.1.4-ANTIBIOTIQUES INHIBITEURS DE VOIES METABOLIQUES

Chez les procaryotes, le métabolisme procède de voies très variées car ils ont acquis une capacité d'adaptation à la vie dans des milieux nutritifs et des conditions de survie très différents des eucaryotes. Malgré ce fait, le nombre de molécules d'antibiotiques agissant à ce niveau et utilisables en clinique est très réduit (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.1.5- ANTIBIOTIQUES ANTI-ANAEROBIES

Certaines bactéries sont capables de vivre en anaérobie en utilisant des voies d'oxydo-réduction indépendantes de l'oxygène, et peuvent atteindre des niveaux de potentiel rédox nettement plus bas que chez les eucaryotes. Ceci permet l'activation métabolique spécifique de certaines molécules, comme les nitroimidazoles, et leur confère

un effet particulier sur ces organismes (et d'autres parasites anaérobies) (Van Bambeke et *al.*, 2008).

II.3.2-PARAMETRES PHARMACODYNAMIQUES

II.3.2.1- ANTIBIOTIQUES BACTERIOSTATIQUES OU BACTERICIDES

Les antibiotiques peuvent être distingués sur base du type d'activité qu'ils exercent. Un antibiotique bactériostatique arrête la croissance des bactéries. Un antibiotique bactéricide tue les bactéries.

La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant *in vitro* la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide). Un antibiotique peut être considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est sensiblement égale à sa CMI. Un antibiotique dont la CMB est très supérieure à la CMI, de telle sorte que sa concentration au site d'infection *in vivo* ne permet pas d'atteindre la valeur de la CMB, sera considéré comme bactériostatique (Van Bambeke et *al.*, 2008).

a) Définitions

- CMI (concentration minimale inhibitrice) : concentration minimale en antibiotique inhibant la croissance macroscopique visible d'une souche donnée dans le standard de mesure. Il existe un standard de référence de détermination en milieu solide et la méthode en milieu liquide.
- CMB (concentration minimale bactéricide) : concentration minimale en antibiotique conduisant à un taux de survie 0,01% (soit 10^{-4}) de l'inoculum de la souche testée dans le standard de mesure. Il existe deux méthodes classiques de détermination : une en milieu solide et une en milieu liquide (Perrin, 2015).

II.4- LA RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

L'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes. En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur leur cible spécifique, la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais également, pour la majorité d'entre eux, sur d'autres cibles telles que les bactéries commensales du tube digestif qui sont des bactéries utiles et non pathogènes. Or, toutes les bactéries sont susceptibles d'acquérir des capacités de résistance aux antibiotiques. Ainsi, la prise d'antibiotique, répétée ou ponctuelle, peut conduire à l'émergence de bactéries résistantes qui vont rendre les traitements antibiotiques ultérieurs moins efficaces, pour le patient chez qui elles apparaissent, mais également pour la

collectivité quand elles diffusent dans l'environnement et se transmettent à d'autres patients (Carlet et Shlemmer, 2015).

II.4.1- DEFINITION DE LA RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES :

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 se 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 et le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (Muylaert et Mainil, 2012).

II.4.1.1- LA RESISTANCE NATURELLE OU INTRINSEQUE

Est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (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) (Loziniewski et *al.*, 2010).

II.4.1.2- LA RESISTANCE ACQUISE

Est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise 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 (Loziniewski et *al.*, 2010).

II.4.2- LES MECANISMES DE LA RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

II.4.2.1- LES MECANISMES GENETIQUES DE LA RESISTANCE ACQUISE

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques, les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (Loziniewski et *al.*, 2010).

a- LA RESISTANCE CHROMOSOMIQUE

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, du au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistante (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible ; elle est permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un

mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (Loziniewski et *al.*, 2010).

b- LA RESISTANCE EXTRA-CHROMOSOMIQUE (PLASMIDES)

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmidique :

1/ la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre – sélectionnées en l'absence d'antibiotique (Loziniewski et *al.*, 2010) .

2/ de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique de "contagieuse ou d'infectieuse". Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées en permettant l'implantation d'un gène là où celle d'un plasmide échoue. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extrachromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries porteuses de tels gènes. Il est important de noter que la résistance extra-chromosomique étant souvent une multirésistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multirésistantes qui ne sont pas contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique (Loziniewski et *al.*, 2010).

II. 4.3- LES MECANISMES BIOCHIMIQUES DE LA RESISTANCE ACQUISE

Ils peuvent être regroupés en trois grands types de mécanismes :

1/ diminution de la perméabilité (mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie) et efflux actif : l'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane et capable d'éjecter

Les antibiotiques

l'antibiotique hors de la bactérie grâce un canal ; cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique ; (voir figure. 03) (Loziniewski et *al.*, 2010) .

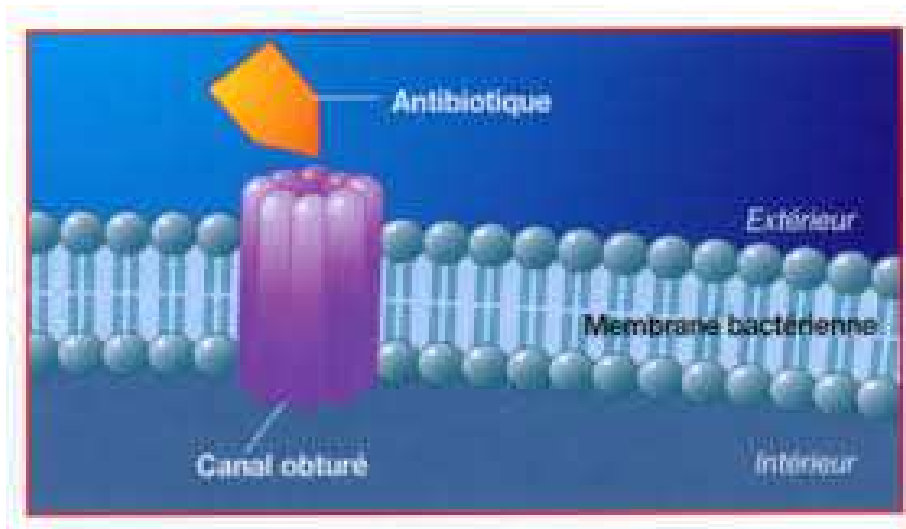


Figure.03: Imperméabilité chez Gram - (Archambaud, 2009)

2/ modification de la cible des antibiotiques : ex. : modification des PLP (voir figure. 04): les PLP ou "protéines liant les pénicillines" sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines (en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée) (Loziniewski et *al.*, 2010) .

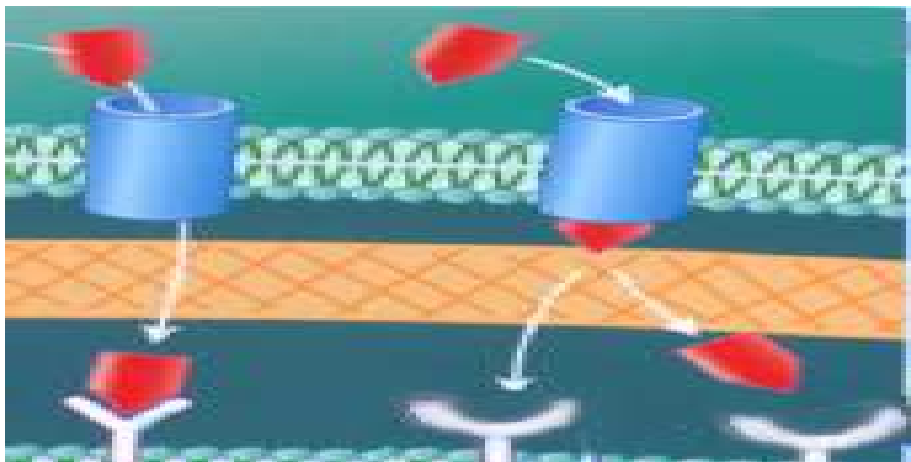


Figure.04: Modification de la cible de l'antibiotique (Archambaud. 2009)

Trois mécanismes peuvent intervenir:

a/ diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines .

Les antibiotiques

b/ augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines.

c/ synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines

3/ production d'enzymes inactivant les antibiotiques : ex. : production de bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables. Le nombre des bêta-lactamases plasmidique est très élevé et elles sont classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les bêta-lactamines, leur faculté à être inhibée par les inhibiteurs tel que l'acide clavulanique, (voir figure 05) (Loziniewski et *al.*, 2010) .

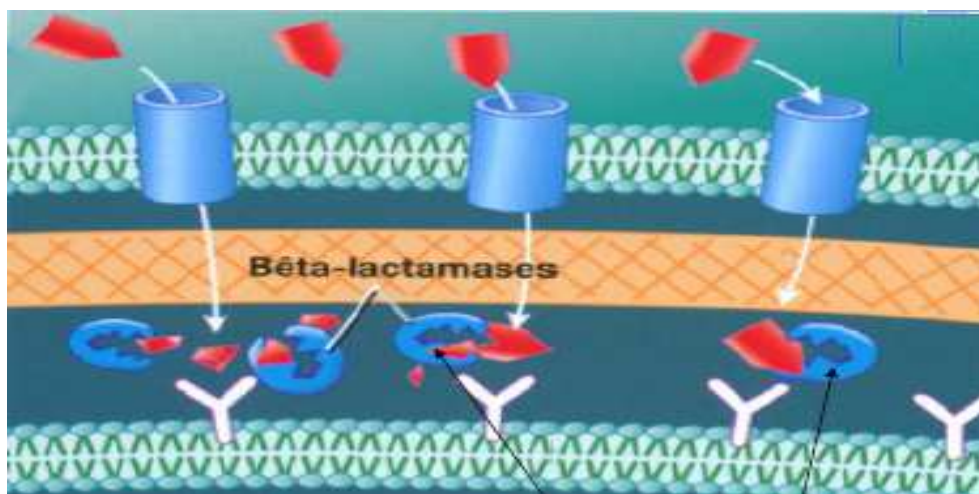


Figure 05 : modification de l'antibiotique (Archambaud. 2009)

Sur un plan pratique, les bêta-lactamases peuvent être regroupées en 4 catégories :

a/ Les pénicillinases sensu stricto ; Elles sont par contre sans action sur la pénicilline M (oxacilline ou méticilline) ainsi que sur les céphalosporines. Ces pénicillinases sont inductibles et codées par des plasmides ou des transposons.

b/ Les bêta-lactamases à spectre élargi ; ces bêta-lactamases, codées par des plasmides, entraînent une résistance (ou une diminution d'activité) vis-à-vis des pénicillines G, des pénicillines M, des carboxypénicillines, des uréidopénicillines, des céphalosporines de 1ère et de 2ème génération (sauf les céphamycines). Les bêta-lactamases à spectre élargi sont bien inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam.

c/ les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) ; ces bêta-lactamases dérivent des enzymes précédentes par mutation des gènes codant pour les bêta-lactamases à spectre élargi. Le profil de résistance conféré est identique à celui conféré par les bêta-lactamases à spectre

Les antibiotiques

élargi mais, il s'étend aux céphalosporines de 3ème génération et à l'aztréonam. Les bêta-lactamases à spectre étendu restent sensibles aux inhibiteurs.

d/ les bêta-lactamases résistantes aux inhibiteurs ; les bêta-lactamases résistantes aux inhibiteurs dérivent de certaines bêta-lactamases à spectre élargi par mutations ponctuelles. Le profil de résistance conféré est identique à celui des bêta-lactamases à spectre élargi mais ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam.

4/L'efflux des antibiotiques : Les bactéries sont capables d'éliminer les antibiotiques par pompage actif hors de la cellule, qui « recrache » littéralement les composés toxiques au dehors.(voir figure 06) Loziniewski et *al.*, 2010) (Loziniewski et *al.*, 2010) .

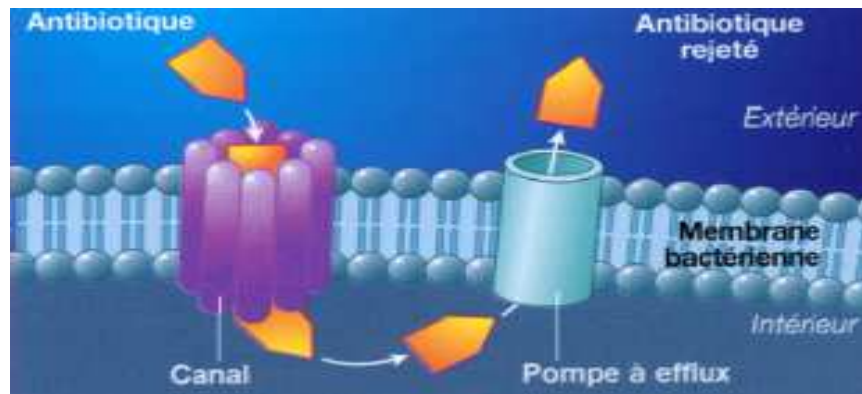


Figure 06: L'efflux des antibiotiques (Archambaud. 2009)

II. 4- SELECTION ET DIFFUSION DES BACTERIES RESISTANTES :

Les antibiotiques n'induisent pas la résistance mais, grâce à leur pression de sélection, ils permettent l'émergence des souches résistantes qui, au sein d'un biotope, seront favorisées par rapport aux souches sensibles. Si la résistance a pour origine une mutation, le biotope sera colonisé par une souche, le plus souvent monorésistante et généralement plus fragile que les souches sauvages. Lorsque la pression de sélection diminue, par arrêt d'utilisation de l'antibiotique, la souche mutée est contre-sélectionnée et le biotope sera à nouveau colonisé par des souches sauvages sensibles. Ceci n'est généralement pas le cas lorsque la résistance est liée à un mécanisme extra-chromosomique. Les antibiotiques à usage agricole (traitement des maladies bactériennes des plantes), les résidus d'antibiotiques présents dans le milieu extérieur sont à l'origine de

la sélection de bactéries résistantes. En médecine humaine, toute antibiothérapie, quel que soit son succès, sélectionne des souches résistantes. Plus l'utilisation des antibiotiques est importante (ou anarchique), plus la fréquence d'apparition des bactéries résistantes est grande (Loziniewski et *al.*, 2010).

II. 5- LA MULTI-RESISTANCE :

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multirésistance face à "une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique" ou face à "une bactérie sensible à moins de 3 familles d'antibiotiques". La multirésistance peut donc être acquise, mais aussi naturelle, comme par exemple pour *Burkholderia cepacia*, ou à un moindre degré pour *Acinetobacter spp.* Au total, ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique. Le rôle de l'exposition aux antibiotiques dans l'émergence de la multirésistance des bactéries est largement rapporté dans la littérature. Si durant la seconde moitié du vingtième siècle, la découverte et l'utilisation de nombreux antibiotiques ont été à l'origine de quelques uns des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion, dans les populations humaines, de bactéries ayant peu à peu acquis des résistances aux antibiotiques, sont devenues des problèmes de santé publique préoccupants. Les antibiotiques administrés à des individus dans un souci de bénéfice individuel ont un impact sur la collectivité par l'activité antibactérienne qu'ils exercent sur les écosystèmes. Ainsi, l'évolution de la résistance bactérienne acquise aux antibiotiques se concrétise aujourd'hui par des taux élevés de multirésistance de certaines espèces bactériennes qui étaient sensibles "à l'origine", espèces plutôt impliquées dans les infections acquises à l'hôpital. La progression de cette multirésistance conjuguée à l'absence de réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les prochaines années risque de conduire à une augmentation de la létalité de certaines infections bactériennes et représente donc une menace réelle pour l'avenir. De ce fait, la maîtrise de la résistance bactérienne aux antibiotiques apparaît bien comme un enjeu majeur de santé. Les deux déterminants de l'émergence et de la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont l'exposition de la population aux antibiotiques et la transmission inter-individuelle des souches résistantes. Il convient donc d'agir sur ces 2 aspects : bon usage des antibiotiques et lutte contre les transmissions croisées (Loziniewski et *al.*, 2010)

II. 6- RESISTANCE DE PROTEUS MIRABILIS

II. 6- 1- RESISTANCE NATURELLE

P. mirabilis est naturellement résistant à la colistine, cyclines (spécificité de l'espèce *mirabilis*) et furanes. Souches sensibles à toutes les bêta-lactamines (pas de céphalosporinase chromosomique de classe C). Les autres antibiotiques testés sur les bacilles à Gram négatif type Entérobactéries sont habituellement actifs (aminosides, quinolones, cotrimoxazole, chloramphénicol) (Sougakoff et al., 2003; Archambaud et al., 2004).

II. 6- 2- RESISTANCE ACQUISE

Mécanismes identiques à ceux décrits pour *E. coli*.

1. beta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase) : des carbénicillinases (type PSE-4) ont été décrites.
2. résistance aux inhibiteurs des beta-lactamases : un mutant de type TEM, IRT-2 (Arg244Ser), a été décrit en association avec TEM-1 dans une souche insensible aux inhibiteurs des beta-lactamases de classe A.
3. beta-lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE) : une souche produisant TEM-10 a été décrite.
4. résistance à l'imipénème : chez *P. mirabilis*, elle n'est pas d'origine enzymatique. La résistance à l'imipénème semble associée à une altération des PLP1A et 2 (protéines liant la pénicilline) (Sougakoff et Trystram, 2003).

II.7-ASSOCIATION D'ANTIBIOTIQUES

L'optimisation de l'utilisation des antibiotiques impose la recherche d'une efficacité maximale, de conséquences écologiques minimales sur l'évolution des flores bactériennes, d'une moindre toxicité, et du meilleur rapport coût/bénéfice. Dans le but d'augmenter la bactéricide, d'élargir le spectre antibactérien, voire de prévenir l'émergence de mutants résistants, les antibiotiques sont souvent utilisés en association. L'apparition de molécules dotées de CMI plus basses ou d'un spectre plus étendu n'a cependant pas conduit les cliniciens à remettre en cause l'intérêt des associations (Auboyer, et al, 1999)

II.7.1- DEFINITION DE L'ASSOCIATION D'ATB

En bactériologie, les associations d'antibiotiques sont caractérisées par quatre types d'interactions :

- **indifférence** : l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre.
- **addition** : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié séparément à la même concentration que dans l'association.
- **synergie** : l'effet de l'association est significativement supérieur à la somme des activités de chaque antibiotique étudié séparément à la même concentration. La traduction arithmétique est : $1 + 1 > 2$.
- **antagonisme** : l'association diminue l'effet de l'un ou l'autre des antibiotiques. L'activité de cette association est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration. De façon arithmétique : $1 + 1 < 2$ (Denes et Hidri, 2009).

II.7.2- LES INTERETS DE L'ASSOCIATION D'ATB

Les objectifs théoriques de la pratique d'une association sont :

a) Elargir le spectre

C'est l'objectif recherché le plus facile à atteindre, particulièrement dans le cadre de l'antibiothérapie probabiliste et du traitement des infections poly microbiennes à flore mixte aéro- et anaérobie. Il est particulièrement justifié avec des antibiotiques à spectre étroit. De nouvelles molécules à spectre large en diminuent la nécessité sans méconnaître l'inactivité de certaines d'entre-elles sur certaines bactéries (Auboyer, et al, 1999).

b) Obtenir une synergie

La synergie résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme des actions de chacun des deux antibiotiques pris isolément. Une synergie ou un antagonisme observé in vitro ne sont pas toujours extrapolables en clinique. En effet, les conditions d'action in vivo de deux

antibiotiques peuvent être influencées par des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques mal pris en compte in vitro. Les données expérimentales in vitro, à condition de reproduire des caractéristiques pharmacocinétiques proches de celles obtenues chez l'homme, permettent d'approcher l'intérêt potentiel d'une association. In vitro, on observe une synergie essentiellement en associant deux antibiotiques bactéricides. La synergie d'une association vis-à-vis d'une espèce bactérienne n'est pas extrapolable à une autre espèce. (Bricaire.1997)

La recherche d'une synergie n'est habituellement justifiée que dans les situations où la bactéricide est difficile à obtenir avec un seul antibiotique (Auboyer *et al.*, 1999).

c) Diminuer l'émergence de souches résistantes

Au sein de la population bactérienne visée par le traitement, la proportion de mutants résistants varie selon l'espèce et selon l'antibiotique. Par exemple, la proportion de bactéries mutantes résistantes aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinase, est d'environ 10^{-6} pour *Enterobacter cloacae*, mais seulement de 10^{-10} pour *Escherichia coli*. La proportion de mutants résistant à la fois à deux antibiotiques est beaucoup plus faible puisque égale au produit des proportions de mutants résistant à chacun des deux antibiotiques. Le nombre absolu de mutants résistants est ainsi toujours en relation directe avec la proportion de mutants et la taille de la population bactérienne (inoculum). La sélection, sous traitement, de mutants résistants est conditionnée par les paramètres pharmacodynamiques. Elle n'est possible que si la concentration de l'antibiotique au sein du site infectieux est supérieure à la CMI de l'antibiotique vis-à-vis de la population sensible et inférieure à la CMI de l'antibiotique vis-à-vis de la sous-population résistante (Vincent et Martin, 2005).

De manière générale, le risque de sélection est particulièrement élevé :

- pour certains antibiotiques comme la rifampicine, les fluoroquinolones, l'acide fusidique, la fosfomycine ;

Ces situations conduisent à recommander une association de deux antibiotiques, non affectés par un même mécanisme de résistance, et pénétrant tous deux correctement au site de l'infection, afin d'obtenir une bithérapie effective (Bricaire, 1997).

Il est nécessaire de rappeler qu'il faut utiliser des posologies suffisantes et un rythme

d'administration prenant en compte les propriétés pharmacodynamiques de chacun des partenaires de l'association de manière à assurer :

- a) une concentration élevée au pic pour les aminosides ;
- b) une concentration Résiduelle élevée pour les glycopeptides ;
- c) une aire sous la courbe optimale pour les fluoroquinolones ;
- d) un rythme d'administration des β -lactamines adapté à leur demi-vie d'élimination.

Enfin, il faut mentionner que la réduction de l'inoculum bactérien (chirurgie, drainage), toujours recommandée, concourt aussi à la réduction du risque de sélection de mutants résistants (Bricaire.1997)

d) Diminuer la toxicité du traitement

Cet objectif est illusoire. Les antibiotiques utilisés en association doivent être utilisés chacun aux doses préconisées. Les associations additionnent les risques d'effets indésirables de chaque médicament et peuvent être responsables d'une potentialisation de toxicité (Bricaire.1997).

II.7.3- LES REGLES D'ASSOCIATIONS DES ANTIBIOTIQUES

La règle de base des associations vise à chercher les synergies et à éviter un antagonisme. Ces effets peuvent dépendre de la bactérie ciblée et il n'existe pas de règles générales. Les règles de **Jawetz et Gunisson** affirment que :

- deux antibiotiques réputés bacteriostatiques sont en général additifs.
- deux antibiotiques réputés bactéricides peuvent être synergiques.
- l'association d'un antibiotique réputé bactériostatique avec un antibiotique réputé bactéricide peut être antagoniste.

Cependant, ces règles souffrent de nombreuses exceptions. Les sulfamides et le triméthoprime agissent en synergie à deux étapes d'une même voie métabolique ; de plus, l'association de ces deux molécules bactériostatiques est réputée bactéricide. Les associations macrolide-chloramphénicol ou macrolide-lincosamide ou macrolide-macrolide sont antagonistes alors que tous ces antibiotiques sont bactériostatiques. Ces lois ne sont qu'un guide destiné à éviter les erreurs grossières notamment celles conduisant à des associations antagonistes : association bêta-lactamine avec une tétracycline ou avec un

macrolide ou avec un phénicolé. Seul un examen de laboratoire peut permettre d'évaluer les effets d'une association sur une souche bactérienne (Euzéby, 2001 ; Ganière, 2009).

II.7.4-LES BACTERIES NECESSITANTS UNE ASSOCIATION D'ATB

➤ Bacilles à Gram négatif

L'usage d'une association est recommandé, quel que soit l'antibiotique utilisé, dans le traitement des infections à *P. aeruginosa* du fait de sa moindre sensibilité, de mécanismes particuliers de résistances et de la sélection fréquente de mutants résistant sous traitement. Bien que l'intérêt d'une bithérapie n'ait jamais été formellement démontré en clinique, une approche similaire peut s'envisager pour *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.* et les entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre étendu ou ayant un niveau de résistance inhabituel par rapport à leur espèce (Auboyer *et al.*, 1999).

➤ Cocci à Gram positif

Pour les streptocoques et les entérocoques, il existe une synergie démontrée et constante entre une β -lactamine et un aminoside (à l'exception des cas impliquant une souche ayant un haut niveau de résistance aux aminosides). Pour le traitement d'une infection grave à entérocoque, il est indispensable de recourir à une association à de la gentamicine (sauf exception). Pour les infections à *S. aureus* une association se justifie à la phase initiale du traitement particulièrement lorsque les conditions d'accès des antibiotiques au sein du tissu infecté sont aléatoires (endocardites, infections osseuses...). Lorsque la souche de *S. aureus* (méti-S. ou méti-R.) est sensible à la gentamicine, il faut souligner que l'association de cet antibiotique, plus que de tout autre, avec l'oxacilline ou la vancomycine, est synergique. Dans les infections à *S. aureus* méti-R.-genta-S., l'association vancomycine-gentamicine est probablement légitime. En revanche, on doit rappeler qu'il n'existe pas de preuve clinique de la supériorité les associations à l'égard des souches de *S. aureus* méti-R.-genta-R (Auboyer, *et al.*, 1999)

II.7.5- MECANISME DE SYNERGIE ET ANTAGONISME DES ATB

II.7.5.1-Mécanismes des associations synergiques

a) Facilitation de la pénétration

la pénétration d'un antibiotique dans la bactérie peut être facilitée par une autre molécule. Ce mécanisme est observé lors de l'association d'un antibiotique inhibant la synthèse de la paroi avec un aminoside. Ainsi, les bêtalactamines ou la vancomycine facilitent la pénétration des aminosides en augmentant la perméabilité de la paroi. Cet effet synergique a été démontré pour les Entérocoques, mais il n'est pas constaté pour toutes les souches de ces espèces(4).

b) Inhibition séquentielle d'une même voie métabolique

Les associations triméthoprime-sulfamides sont synergiques car il y a une inhibition séquentielle de la dihydroptéroate synthétase et de la dihydrofolate réductase qui sont deux enzymes impliquées dans la synthèse des folates(4).

c) Inhibition de la synthèse de la paroi

Un effet synergique séquentiel se produit lors de l'association de la vancomycine avec une bêta-lactamine. L'association de deux bêta-lactamines se fixant sur des Protéines liant les Pénicillines différentes peut également avoir un effet synergique. Les PLP ou protéines Liant les Pénicillines constituent les cibles d'action des bêta-lactamines(4).

d) Inhibition des bêta-lactamines

Une synergie par compétition d'affinité pour une bêta-lactamase peut être observée lors de l'association pénicilline G (ou ampicilline) avec la cloxacilline. L'association d'un inhibiteur des bêta-lactamases tels que l'acide clavulanique avec l'amoxicilline permet à ce dernier antibiotique de conserver une efficacité sur des souches productrices de certaines bêta-lactamases(4).

II.7.5.2- Mécanismes des associations antagonistes

a) Association d'un antibiotique bactériostatique et d'une bêta-lactamine

Les antibiotiques bactériostatiques comme les tétracyclines, les macrolides ou les phénicolés diminuent l'activité bactéricide des bêta-lactamines car celles-ci ne sont actives que sur les bactéries en phase de multiplication. Cet antagoniste a été démontré in vitro et in vivo(4).

b) Associations d'antibiotiques actifs sur la sous-unité 50S des ribosomes

Les associations macrolides-chloramphénicol ou macrolides-lincosamides ou macrolides-macrolides conduisent à une compétition pour la fixation sur la sous-unité 50S des ribosomes ce qui produit un effet antagoniste(4).

c) Inhibition du transfert actif des aminosides

In vitro, l'association d'un aminoside avec un phénicolé ou une tétracycline inhibe le mécanisme de transfert actif nécessaire à la pénétration de l'aminoside dans la cellule bactérienne(4).

d) Induction des bêta-lactamases

L'association de deux bêta-lactamases peut être antagoniste si l'une d'elles est inductrice de bêta-lactamases. Exemples : associations piperacilline-céfotaxime (ou ceftazidime ou imipénème); associations céfotaxine-céfamandole (ou ceftazidine ou carbénicilline (Diouara, 2007).

II.8-CONCLUSION

De ce fait, on conclue que l'association des antibiotiques est intéressante et est un outil indispensable au clinicien en cas d'échec de la monothérapie. Les combinaisons synergiques réalisées *in vitro* doivent se prouver *in vivo* en tenant compte de la forme galénique de l'antibiotique et du mode d'administration, qui peuvent controverser les résultats *d'in vitro*, surtout le point de la biodisponibilité et la pharmacodynamique des médicaments.

Proteus mirabilis constitue une des bactéries pathogènes pour l'Homme qui implique l'utilisation une combinaison efficace, de nombreuses associations sont mises au point par les cliniciens et les chercheurs. Nous allons étudier dans notre projet l'effet de quelques associations d'antibiotiques sur le *Proteus Mirabilis* en utilisant la méthode l'échiquier *in vitro*.

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

III 1.LE BUT DU TRAVAIL :

Le but de ce travail est de rechercher *in vitro* une association d'antibiotiques efficace pour le traitement de certaines infections causée par le *Proteus Mirabilis*. En se basant sur la méthode de l'échiquier

III.2. MATERIEL UTILISE :

1. La bactérie utilisée est :
 - a. *Proteus mirabilis*, isolé à partir des œufs de poules pondeuses ;
 - b. *Proteus mirabilis*, isolé à partir de poulets de chair.
2. Les antibiotiques utilisés dans la présente étude sont fournis par la filière antibiotique de SAIDAL de Médéa
 - a. Céfazoline.
 - b. Amoxicilline sodique pure.
 - c. Pénicilline G.
 - d. Ampicilline.
3. Le bouillon de Muller Hinton (37 g/l) stérilisé à l'autoclave (121°C pendant 15 mn)
4. L'eau distillée stérile
5. Tube à essai de 12x75 mm stérile
6. Embouts micropipettes bleu et jaune stériles
7. Micropipettes 1000 µl, 100µl variables stérilisés par l'éthanol.
8. Plaques Api 20E
9. Gélose hektoen
10. Bouillon BHIB
11. Flacons en verre avec un bouchon à vis de 250 ml ; erlenmeyer pipette pasteur, éprouvette
12. Agitateur magnétique.
13. Balance de précision
14. Autoclave
15. Etuve
16. Boîtes de pétri
17. Bec bunsen
18. Portoir pour les tubes

III.3.LES METHODES UTILISEES :

L'obtention des informations indicatives sur l'interaction des ATB en association séparément ou dans la synergie *in vitro* peut exiger l'essai dans le laboratoire clinique. La détermination de la résistance franche, la susceptibilité, identification de mutant résistant, antagonisme, synergisme, et résistance attribuable au besoin génotypique d'induction peut être évalué par des méthodes sensibles au laboratoire, telle que : la méthode de l'échiquier

III.3.1.Identification des isolats

On ensemence des tubes à essai contenant le bouillon BHIB avec les isolats de *Proteus mirabilis* afin de les reviviez. On incube à 37°C pendant 24 h. le lendemain, on ensemence une boîte contenant la gélose hektoen, et on incube à 37°C pendant 18-24h.

La présence des colonies de couleur vertes sur la gélose hektoen avec ou sans centre noir est suivis par identification biochimique sur galerie api 20E.

On prend une seule colonie bien isolée sur la gélose et on la mit dans 5 ml eau physiologique. Apres homogénéisation, on ensemence la galerie selon indication suivante :

- pour les tests VP, Gel et CIT remplir le tube et cupule.
- pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et Ure remplir les cupules par huile de paraffine.
- pour les autres tubes testes remplir que les tubes.

On dépose 5ml eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, on ajoute des réactifs pour :

- Le test TDA : on ajoute une goutte de réactif TDA.
- Le test IND : on ajoute une goutte de réactif Kovacs.
- Le test VP : on ajoute une goutte VPI et une goutte VPII.

Noter sur les fiche accompagné les résultats et les interpréter à partir d'un logiciel.

III.3.2.Détermination de la CMI :

III.3.2.1.Principe

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) mesure la sensibilité des germes aux antibiotiques ou antifongiques (antimicrobiens). Elle évalue la capacité de croissance des

Matériels et méthodes

micro-organismes en présence d'antibiotiques à des concentrations différentes. La mise en évidence de l'effet d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche bactérienne est simple et macroscopique: Effet sur la croissance. La définition de la CMI fait référence à l'inhibition macroscopique (3).

III.3.2.2. La méthode de dilution en milieu liquide

Pour déterminer la CMI d'un antibiotique, on teste des concentrations croissantes d'antibiotique vis à vis d'un germe.

La méthode classique se fait par dilution en milieu liquide. On met dans chaque tube le même inoculum, et on ajoute des quantités croissantes d'antibiotique. Au bout de 18 heures si le tube est trouble, c'est qu'il y a croissance de la bactérie, Le premier tube clair nous donne la CMI.

III.3.3. LA METHODE DE L'ECHIQUIER (CHECKEBOARD) :

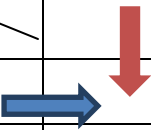
III.3.3.1- Le principe : (Schwalbe, et al, 2007)

L'échiquier est l'une des techniques les plus utilisées pour l'évaluation des interactions des ATB. Le terme « échiquier » résulte du modèle qui est produit par les dilutions des deux agents antimicrobiens testés. La gamme des concentrations examinées pour chaque agent antimicrobien est quatre à cinq dilutions plus bas que la concentration inhibitrice minimale (CMI) et au moins deux dilutions plus haut que le CMI (si on suspecte l'antagonisme). Les tubes sont arrangés dans un format de colonnes et de rangés. Chaque rangé a une quantité constante du premier ATB1, et chaque colonne contient la gamme de concentrations de l'autre ATB2 (voir la figure I suivante). Les résultats sont calculés mathématiquement et exprimés en termes FIC index (fractional inhibitory concentration) égale à la somme des FIC index pour chaque ATB. Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul. Si l'index de FIC est ≤ 0.5 , la combinaison antimicrobienne est interprétée en tant qu'étant synergique ; entre 1 et 4 comme indifférents ; et > 4 comme antagoniques (Schwalbe et al, 2007).

Matériels et méthodes

Tableau .01. Représentation de l'arrangement des tubes dans la méthode de l'échiquier

ATB1 \ ATB2	1/2 CMI	1 CMI	2CMI	4CMI	8 CMI
1/2 CMI					
1CMI					
2CMI					
4CMI					
8 CMI					



III.3.3.2- Le Protocol : méthode de macro-dilution en bouillon

A. Préparation des solutions d'ATB :

La solution mère d'ATB 80 mg/ml (peser 80 mg de l'ATB en poudre et ajouter 10 ml de l'EDS ; avec une homogénéisation par le vortex). Préparer une solution de 40 ml de chaque ATB (voir le tableau02)

Matériels et méthodes

Tableau. 02. la préparation des solutions d'ATB stérile

ATB	Solution mère 10 ml	1 ^{ière} dilution pour qsp 40ml	La gamme des concentrations utilisée (µg/ml)				
			1/8 CMI	1/4CMI	1/2CMI	CMI	2 CMI
PEN G	8 mg Tableau. 06. la préparation des solutions d'ATB stériles /ml	200 µg/ml	1	2	4	8	16
Amp	8 mg/ml	200 µg/ml	0,5	1	2	4	8
CEFA	8 mg/ml	200 µg/ml	0,5	1	2	4	8
Amox	8 mg/ml	200 µg/ml	0,25	0,5	1	2	4

III.3.3.3- Préparation de l'inoculum

La souche utilisée pour inoculer le milieu de culture est conservée au réfrigérateur dans des tubes inclinés. En cas de besoin, on utilise une culture fraîche ; on inocule 4 à 5 colonies dans 10 ml de bouillon de MH, et on incube pendant 18 à 24 heures à une température de 37°C.

III.3.3.4- L'ECHIQUIER :

On remplit les tubes à essai par le bouillon MH afin que le volume final soit 10 ml en tenant compte du volume de l'inoculum ainsi que le volume de la solution d'antibiotique à ajuster (tenir compte de la concentration finale en antibiotique). On stérilise les tubes à l'autoclave (121 °C pendant 15 mn) ; on les laisse refroidir, puis on ajoute les volumes des antibiotiques selon les concentrations désirées (tableau.06). On inocule les tubes par 1ml

Matériels et méthodes

de la souche et on homogénéise par le vortex. On prépare 2 tubes à essai qui vont servir comme témoins ; on met dans l'un le milieu de culture, et dans l'autre le milieu avec l'inoculum. On incube à 37°C pendant 18 - 24 heures. La lecture des résultats de l'échiquier est interprété comme celle de la lecture de la CMI : une croissance bactérienne est signalée négative lorsqu'elle n'est pas visible à l'œil nu, et une croissance bactérienne est signalée positive lorsqu'il y a un trouble au niveau des tubes à essai.

RESULTATS ET DISCUSSION

V. CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. LES RESULTAT :

Les résultats sont représentés dans des tableaux (pour l'échiquier) dont les résultats positifs sont les tubes qui présentent une turbidité visuelle après incubation de 18-24 heures. Le FIC index est calculé pour chaque association. Les concentrations des antibiotiques sont exprimées en $\mu\text{g/ml}$.

Les témoins : tubes contenant le Bouillon MH seul pour témoin de la non contamination du paillasse et de la manipulation ou inoculés par la souche *Proteus Mirabilis* pour témoin de la culture.

V.1.1 identification des isolats

V.1.1.1I SOLAT DE PROTEUS MIRABILIS (poulet de chair)



Figure 07 *Proteus Mirabilis* sur milieu hektoen

V.1.1.2 ISOLAT DE PROTEUS MIRABILIS (poule pondeuse)



Figure 08 *Proteus Mirabilis* sur milieu hektoen

RESULTATS ET DISCUSSION

V.1.1.3. identification biochimiques des isolat par API 20E

Les résultats des galeries API20E des souches testées sont figurés comme suite ;



Figure 09: Résultat de Galerie Api20E d'un isolat

Après la comparaison de notre galerie avec un témoin on va faire la lecture facilement; puis à l'aide d'un logiciel d'identification (identification microbienne via les API-Microsoft Excel) on obtient les résultats donnés (voire l'annexe)

V.1.2 calcul de la CMI

V.1.2.1 isolat de *Proteus mirabilis* (poulet de chair)

Le calcul de la CMI de cet isolat montre une résistance assez élevée pour les antibiotiques étudiés. La CMI pour l'Amoxicilline est de 128 μ g/ml ; 1 et pour l'ampicilline est 128 μ g/ml la pénicilline G est supérieur à 256 μ g/ml. Cet isolat est sensible à la Céfazoline (CMI = 4 μ g/ml) les résultats dans le tableau suivant

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 03 La CMI de *Proteus mirabilis* (poulet de chair)

ATB	Gamme de concentration (µg/ml)								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Amx	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amp	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Cef	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Croissance positive.
 Croissance négative.

V.1.2.2 isolat de *Proteus mirabilis* (poule pondeuse)

Le calcul de la CMI de cet isolat montre une sensibilité pour les antibiotiques étudiés La CMI pour l'Amoxicilline est de 8µg/ml, pour l'ampicilline est 4 µg/ml et pour la pénicilline G est 4µg/ml. Cet isolat est très sensible à la Céfazoline (CMI = 4 µg/ml) (Tableau 04) .

Tableau 04 : La CMI de *Proteus mirabilis* (poule pondeuse)

ATB	Gamme de concentration (µg/ml)								
	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
Amx	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Pen	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Amp	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Cef	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Croissance positive.
 Croissance négative.

V.1.3.Résultats de l'échiquier d'isolat de *Proteus mirabilis* (poulet de chair)

Nous n'avons pas effectuée l'échiquier pour cet isolat vu qu'elle est résistante à la plupart des antibiotiques étudiés.

V.1.3.Résultats de l'échiquier d'isolat de *Proteus mirabilis* (poule pondeuse)

Nous présentons ici les différentes combinaisons étudiées exception faite pour la pénicilline et l'Amoxicilline (faute de temps).

RESULTATS ET DISCUSSION

V.1.3.1. Association de la pénicilline G et l'ampicilline.

La gamme des concentrations des antibiotiques est choisie selon la CMI calculée dans la présente étude

Tableau 05. Résultat de l'association la peneciline G (CMI= 4µg/ml) et l'ampicilline. (CMI=2µg/ml) sur la croissance de *Proteus Mirabilis*

		PEN G			
		1µg/ml	2 µg/ml	4µg/ml	8µg/ml
AMP	1 µg/ml				
	2 µg/ml		C		
	4 µg/ml				
	8 µg/ml				

 Croissance positive.

 Croissance négative.

Sur le tableau ci-dessus on voit bien que la croissance était quasiment nulle au niveau des tubes 4 µg/ml pour le Pen G et 4 µg/ml pour l'Amp, ce qui représente la CMI des deux antibiotique seuls. Dans le tube [2 PENG + 2 ampi] la croissance était nulle. C'est la concentration qui représente l'association la plus efficace dans la présente étude.

Calcul du FIC index:

Le FIC index de l'association, est la somme des FIC index de chaque antibiotique. Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul.

$$\sum \text{FIC index} = \text{FIC index Amp} + \text{FIC index Pen G.}$$

$$\text{FIC index} = \text{CMI Amp en association} / \text{CMI Amp} + \text{CMI Pen G en association} / \text{CMI Pen G}$$

RESULTATS ET DISCUSSION

$$FIC \text{ index (Amp)} = 2/4=0.5$$

$$FIC \text{ index (Pen G)} = 2/4=0.5$$

$$FIC \text{ index (association)} = 0.5+0.5=1$$

FIC index compris entre 1 et 4 implique que cette association est indifférente.

V.1.3.2. Association de la pénicilline G et la Céfazoline

La gamme des concentrations des antibiotiques est choisie selon la CMI calculée dans la présente étude.

Tableau 06. Résultats de l'association de la pénicilline G (CMI=4µg/ml) et de la céfazoline (CMI=4µg/ml) sur la croissance de *Proteus Mirabilis*

		Pen G				
		1µg/ml	2µg/ml	4µg/ml	8µg/ml	16µg/ml
CEFA	1 µg/ml			C		
	2µg/ml		C			
	4µg/ml					
	8µg/ml					
	16µg/ml					

Croissance positive.
 Croissance négative.

Sur le tableau ci-dessus on voit bien que la croissance était quasiment nulle au niveau des tubes 4 µg/ml pour la PEN G et 4µg/ml pour la CEFA qui représente la CMI des deux antibiotique seuls. Dans les tubes [4PENG + 1Cefa], et[2PENG + 2Cefa], la croissance était nulle. Sont ces concentrations qui représentent l'association la plus efficace dans la présente étude.

Calcul du FIC index:

Le FIC index de l'association, est la somme des FIC index de chaque antibiotique. Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul.

RESULTATS ET DISCUSSION

-1- Σ FIC index = FIC index Cefa + FIC index Pen G.

$$FIC\ index\ (CEFA) = 2/4 = 0.5$$

$$FIC\ index\ (Pen\ G) = 2/8 = 0.25$$

$$FIC\ index\ (association) = 0.75$$

FIC index compris entre 0.5 et 1 implique que l'association est partiellement synergique

-2- Σ FIC index = FIC index Cefa + FIC index Pen G.

$$FIC\ index\ (CEFA) = 1/4 = 0.25$$

$$FIC\ index\ (Pen\ G) = 4/8 = 0.5$$

$$FIC\ index\ (association) = 0.75$$

FIC index compris entre 0.5 et 1 implique que l'association est partiellement synergique

V.1.3.3 Association de l'Amoxiciline et la Céfazoline

La gamme des concentrations des antibiotiques est choisie selon la CMI calculée dans la présente étude

Tableau 07. Résultats de l'association de l'Amoxi (CMI=8 μ g/ml) et de la céfazoline (CMI=4 μ g/ml) sur la croissance de *Proteus Mirabilis*

		AMOXI				
		2 μ g/ml	4 μ g/ml	8 μ g/ml	16 μ g/ml	32 μ g/ml
CEFA	1 μ g/ml					
	2 μ g/ml			C		
	4 μ g/ml		C			
	8 μ g/ml					
	16 μ g/ml					

Croissance positive.
 Croissance négative.

RESULTATS ET DISCUSSION

Sur le tableau ci-dessus on voit bien que la croissance était quasiment nulle au niveau des tubes 8 µg/ml pour l'Amoxi et 4µg/ml pour la CEFA qui représente la CMI des deux antibiotique seuls. Dans les tubes [8Amoxi + 2Cefa], et [4Amoxi + 4Cefa], la croissance était nulle. Sont ces concentrations qui représentent l'association la plus efficace dans la présente étude

Calcul du FIC index:

Le FIC index de l'association, est la somme des FIC index de chaque antibiotique. Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul

$$-1- \sum \text{FIC index} = \text{FIC index Cefa} + \text{FIC index Amoxi}$$

$$\text{FIC index (CEFA)} = 2/4=1$$

$$\text{FIC index (Amoxi)} = 4/8=0.5$$

$$\text{FIC index (association)} = 1+0.5=1.5$$

FIC index compris entre 1 et 4 implique que cette association est indifférente.

$$-2- \sum \text{FIC index} = \text{FIC index Cefa} + \text{FIC index Amoxi}$$

$$\text{FIC index (CEFA)} = 4/4=1$$

$$\text{FIC index (Amoxi)} = 8/8=0.5$$

$$\text{FIC index (association)} = 1+0.5=1.5$$

FIC index compris entre 1 et 4 implique que cette association est indifférente.

V.1.3.4. Association de l'Ampi et l'Amoxi

La gamme des concentrations des antibiotiques est choisie selon la CMI calculée dans la présente étude

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 08 Résultats de l'association de l'Amoxi (CMI=2µg/ml) et de l'Ampi(CMI=4µg/ml) sur la croissance de *Proteus Mirabilis*

		Amoxi				
		1µg/ml	2µg/ml	4µg/ml	8µg/ml	16µg/ml
Ampi	1µg/ml					
	2µg/ml					
	4µg/ml		C			
	8µg/ml					
	16µg/ml					



Calcul du FIC index:

Le FIC index de l'association, est la somme des FIC index de chaque antibiotique. Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul

$$\Sigma \text{ FIC index} = \text{FIC index Ampi} + \text{FIC index l'Amoxi}$$

$$\text{FIC index (Ampi)} = 4/4 = 1$$

$$\text{FIC index (Amoxi)} = 2/4 = 0,5$$

$$\text{FIC index (association)} = 1,5$$

FIC index compris entre 1 et 4 implique que cette association est indifférente.

V.1.3.5. Association de l' Ampi et Cefa

La gamme des concentrations des antibiotiques est choisie selon la CMI calculée dans la présente étude

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 09 Résultats de l'association de 1 Ampi (CMI=4µg/ml) et de Cefa(CMI=4µg/ml) sur la croissance de *Proteus Mirabilis*

		Ampi				
		1µg/ml	2µg/ml	4µg/ml	8µg/ml	16µg/ml
Cefa	1µg/ml					
	2µg/ml		C			
	4µg/ml					
	8µg/ml					
	16µg/ml					

Croissance positive.
 Croissance négative.

Calcul du FIC index

Le FIC index de l'association, est la somme des FIC index de chaque antibiotique.
 Le FIC pour un ATB est défini en tant que CMI de l'ATB en association divisé par la CMI de l'ATB seul

$$\Sigma \text{ FIC index} = \text{FIC index Ampi} + \text{FIC index Cefa}$$

$$\text{FIC index (Ampi)} = 2/4 = 0.5$$

$$\text{FIC index (Cefa)} = 2/8 = 0.25$$

$$\text{FIC index (association)} = 0.5 + 0.25 = 0.75$$

FIC index compris entre 0.5 et 1 implique que l'association de la Cefa et l'Ampi est partiellement synergique

Discussion

Le but de ce travail était de rechercher *in vitro* une association d'antibiotiques efficace pour le traitement des infections causées par le *Proteus Mirabilis* en basant sur la méthode de l'échiquier.

Le calcul de la CMI nous a permis de constater que l'isolat du poulet de chair était résistant à la plupart des antibiotiques étudiés ($>128\mu\text{g/ml}$) et était sensible pour la Céfazoline ($4\mu\text{g/ml}$). Pour l'isolat de *P. mirabilis* issus des œufs des poules pondeuses, une sensibilité variable a été enregistrée à l'égard des antibiotiques étudiés.

La variabilité de la résistance aux antibiotiques chez les deux isolats peut être expliquée par le fait que les éleveurs de poulet de chair utilisent beaucoup plus d'antibiotiques que les éleveurs des poules pondeuses. Les études concernant les résidus des antibiotiques montrent que la viande de poulet de chair est à plus de 60% contaminée par les antibiotiques (Mohamed Said, 2015), ceux – ci favorisent la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (El Bahri, 2007).

Cette variabilité de sensibilité envers les antibactériens de *P. mirabilis* a été décrite par d'autres auteurs, elle varie de $0.25\mu\text{g/ml}$ à plus de $256\mu\text{g/ml}$ pour l'ampicilline et l'Amoxicilline. Pour la Céfazoline, elle a été de 2 à plus de $256\mu\text{g/ml}$ (EUCAST, 2016).

L'étude de l'association des antibiotiques a montré une synergie partielle dans l'association de la pénicilline G et de la Céfazoline et dans l'association de l'ampicilline et de la Céfazoline. Toutes les autres associations étudiées semblent être indifférentes.

Les céphalosporines sont des antibiotiques appartenant à la famille des bêta-lactamines, Les céphalosporines présentent de nombreuses analogies structurales avec l'un des composants de la paroi bactérienne. Elles rentrent par conséquent en compétition avec ce composant lors des réactions enzymatiques de synthèse de la paroi, entraînant un défaut dans l'élaboration de celle-ci. Les enzymes sur lesquelles se fixent les céphalosporines sont appelées Penicillin Binding Proteins (PBP 1, 2, 3) :

- Fixation sur la protéine PBP1 : cette enzyme est responsable de l'intégrité structurale de la paroi et intervient dans l'élongation de la bactérie. La fixation d'une céphalosporine sur cette protéine affaiblit donc la structure de la paroi de la bactérie qui éclate sous l'effet de la pression osmotique.

Discussion

- Fixation sur la protéine PBP2 : cette enzyme est responsable de la forme de la bactérie. La fixation d'une céphalosporine sur cette protéine entraîne l'apparition de bactéries de forme anormale (cellules rondes nommées sphéroplast) qui sont lysées.

- Fixation sur la protéine PBP3 : cette enzyme permet la formation du septum dans les bactéries en division. Son inhibition conduit donc à des bactéries très longues qui seront aussi lysées. (Riviere et Papich, 2009 ; Plumb, 1999 ; Chaussade et al., 2013).

L'affinité variable des céphalosporines vis – à – vis des PBP explique en partie les variations du spectre d'action de celles-ci (Plumb, 1999). Les concentrations critiques de la Céfazoline séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes : S \leq 8 mg/l et R $>$ 32 mg/l. Dans notre étude, les deux isolats étudiés étaient sensible à la Céfazoline avec une CMI inférieure à 4 mg/l pour l'ensemble.

Les bêta-lactamines se fixent de façon covalente sur les protéines liant la pénicilline (PLP), enzymes (essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Cette fixation bloque de manière irréversible la croissance bactérienne.

Pour les bactéries Gram négatif, elles atteignent ces enzymes après pénétration à travers les canaux porines de la membrane externe. Ce sont des antibiotiques bactéricides dont l'action est temps – dépendante (Chausade et al., 2013).

L'Amoxicilline n'est pas le choix N° 1 pour le traitement des infections à *Proteus mirabilis*, puisque 53 à 96% des souches sont résistantes à l'Amoxicilline (Ayub et al., 2015 ; Chaussade et al., 2013 ; Alabi et al., 2013). Cette résistance peut être diminuée par l'ajout de l'acide clavulanique (Criel et al., 2015): l'acide clavulanique inhibe rapidement et irréversiblement la plupart des bêtalactamases produites par des bactéries à Gram + et à Gram -. De ce fait, cette association se montrent active sur un nombre important de bactéries, y compris les bactéries résistantes par sécrétion de bêtalactamases de type essentiellement pénicillinases, que cette résistance soit acquise (staphylocoque doré, gonocoque, *Haemophilus influenzae*, colibacille, *Proteus mirabilis*) ou naturelle (klebsielles, *Proteus vulgaris*, *Bacteroides fragilis*) (VIDAL, 2016) .

Les concentrations critiques de l'Amoxicilline séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes : S \leq 4 mg/l et

Discussion

R > 16 mg/l. l'isolat de *p. mirabilis* (p. poudeuse) a une résistance intermédiaire, par contre celle isolées à partir du poulet de chair était tres resistente.

Les taux de résistance de *P. mirabilis* sont relativement moins élevés avec 60 % à l'ampicilline (Bentorki et al., 2012) et 8,7% (Harada et al., 2014). Les concentrations critiques de l'ampicilline séparant les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire, et ces dernières, des résistantes : S <= 4 mg/l et R > 16 mg/l. l'isolat de *p. mirabilis* (p. poudeuse) est sensible, par contre celle isolées à partir du poulet de chair était très résistante.

P. mirabilis est résistante à la pénicilline G (Munsi et al., 2015), l'efficacité des antibiotique contre les biofilm de *P. mirabilis* peut être influencé par leurs maturité et par l'origine des isolats (Kwiecińska-Piróg et al., 2013).

Le test de synergie utilisé (l'échiquier) nous donn²e la possibilité de tester la combinaison de plusieurs concentrations d'antibiotiques. Toutes les associations d'antibiotiques étudiés semblent avoir une association additive ou indifférente, seulement deux associations ont une synergie partielle. Ceci est dû au fait que tous les antibiotiques ont le même mode d'action ; action sur la synthèse de la paroi sur les bactéries en voie de multiplication.

Une combinaison de la Céfazoline avec d'autres antibiotiques, notamment ceux actifs sur la réplication de l'ADN ou sur la synthèse protéiques peut être envisagée si les moyens le permettent.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'antibiothérapie est la voie de traitement de choix pour traiter les infections à *Proteus mirabilis*, que ce soit la monothérapie, la bithérapie voir la poly-thérapie. Les résultats obtenus suite à la présente étude nous donnent une idée générale sur l'association d'antibiotique *in vitro* par la méthode de l'échiquier utilisé en cas d'associations d'antibiotiques.

Le but de ce travail est de rechercher *in vitro* une association d'antibiotiques efficace pour le traitement de certaines affections causée par le *Proteus Mirabilis* parmi les antibiotiques suivant : Céfazoline, ampicilline, pénicilline G et Amoxicilline..

Le calcul de la CMI a montré que les isolats provenant du poulet de chair étaient résistants à la majorité des antibiotiques testés. L'étude de l'association des antibiotiques a montré une synergie partielle dans l'association de la pénicilline G et de la Céfazoline et dans l'association de l'ampicilline et de la Céfazoline. Toutes les autres associations étudiées étaient indifférentes ou additives.

Nous avons traité dans cette étude, qu'un seul objectif des combinaisons d'antibiotiques: La Synergie. D'autres points restent à élucider: élargissement du spectre d'action, diminution de la toxicité et émergence des mutants résistants. Certains objectifs nécessitent de l'expérimentation sur des êtres vivants. De même, les résultats trouvés (synergie partielle), peuvent être réessayés sur des animaux vivants pour prouver que l'association est synergique *in vitro* et *in vivo*.

Nous recommandons aussi d'élargir la liste des antibiotiques étudiés et d'augmenter le nombre d'isolats.

Références bibliographiques

- Abbott, S. L.** (2007). Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press.
- Archambaud M., Clave D.** (2004). Fiche technique : Proteus mirabilis BLSE. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 51 : 8-543.
- Avril J-L., Dabernat H., Denis F. et al.** (2000). Bactériologie Clinique. Ellipses. 3ème Edition. 511 p.
- **Auboyer.C.** (2012) .(anesthésie-réanimation chirurgicale, St Etienne),
Coordonnateur, Denes É., Hidri N. *Antibiotic synergy and antagonism* : 106-115
- Coker, Christopher, Carrie A. Poore, Xin Li, Harry L.T. Mobley** (2000). "Pathogenesis of Proteus mirabilis urinary tract infection." *Microbes and Infection.* p:1497-1505.
- Christopher Coker, Carrie A. Poore, Xin Li, Harry L.T. Mobley,** (2000);
Review:Pathogenesis of Proteus mirabilis urinary tract infection, p: 1497-1498
- Cernohorská,** (2011), pubmed : Proteus mirabilis isolated from urine, resistance to antibiotics and biofilm formation, p:1.
- Denes É., Hidri N.** (2012). *Antibiotic synergy and antagonism* : Antibiotiques106-115.
- Diouara;** (2007), Thèse de doctorat : SENSIBILITE DES BACTERIES PATHOGENES AUXANTIBIOTIQUES DANS LE DISTRICT DE BAMAKO EN 2006, université de Bamako , p 32-33.
- M.Doucet ,P.Dacher et P. Rivière**(2009), Institut Pasteur, Paris: Multirésistance aux antibiotiques : pourquoi les bactéries sont si efficaces,
<http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/multiresistance-aux-antibiotiques-pourquoi-les-bacteries-sont-si-efficaces>
- **Euzéby J.P.**(2001). *Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.* Site internet
<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/atbq/tabldoux.html>
- EUCAST.**(2016).European committee on antimicrobial susceptibility testing.
<http://mic.eucast.org/> Consulté le 28/02/2016.

Références bibliographiques

- El Bahri L. (2007). Journée AFRIMED. Sousse. 12 mai 2007.
- Françoise Van Bambeke, Dr Sc. Pharm.Paul Tulkens (2007-2008) Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse année 2008, p 1-3.
- F. Bricaire (1997). *Pourquoi une association antibiotique ?* : 3s-8s
- G. Beaucaire , H. Drugeon (1999). *Associations d'antibiotiques ou monothérapie en réanimation chirurgicale et en chirurgie*. Conférence d'experts. 1-8
- Garrity GM, Brenner D J, Krieg NR, Staley JT.(2005). *bergey's manuel of systematic bacteriology* : Vol 2 *the proteobacteria* : part B *the gammaproteobacteria*.2 ed. Springer, USA.
- Gonzales, Gus. (2008) Proteus Infections. eMedicine from WebMD. Last edited 2 March 2006. Accessed Nov. 30., <<http://www.emedicine.com/med/TOPIC1929.HTM>>
- JF Perrin maj (2008-2015) , Antibiotiques : effets bactériostatiques et bactéricides, CMI, CMB, méthode par dilutions en milieu liquide v2 , p 1-2.
- La recherche (1998), article: antibiotiques : la resistance des bactéries - dans mensuel n°314 , novembre, p: 59 , <http://www.larecherche.fr/savoirs/dossier/viande-apres-hormones-antibiotiques-01-11-1998-76345>
- Loziniewski A., Rabaud C., Nancy (2010). RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES, Infections associées aux soins, Juillet 2010 , p.1-3.
- Lund, Marlys E., John M. Matsen, Donna J. Blazevic(1975). "Rapid Identification of Swarming Proteus Using thePathoTec Ornithine Decarboxylase Test Strip." Journal of Clinical Microbiology, P. 478-9.
- Mok Sohn, CI Kang, EJ Joo (2010), "Epidemiology of Ciprofloxacin Resistance and Its Relationship to Extended-Spectrum β -Lactamase Production in Proteus mirabilis Bacteremia", p:89.

Références bibliographiques

- **Mohamed said R.(2015)**. Etudes qualitatives et quantitatives des résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs dans la région de la Mitidja Utilisation des probiotiques comme alternative. These Doct. 2015
- Nicole Valentini (9 May 2013)**, Swarming Motility in *Proteus mirabilis* causative agent of UTIs, From MicrobeWiki, the student-edited microbiology resource, https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Swarming_Motility_in_Proteus_Mirabilis:_Causative_Agent_of_UTIs
- Pearson MM, Sebahia M, Churcher C, Quail MA, Seshasayee AS, Luscombe NM, Abdellah Z, Arrosmith C, Atkin B, Chillingworth T, Hauser H, Jagels K, Moule S, Mungall K, Norbertczak H, Rabinowitsch E, Walker D, Whithead S, Thomson NR, Rather PN, Parkhill J, Mobley HL(2008)**. “Complete genome sequence of uropathogenic *Proteus mirabilis*, a master of both adherence and motility.” J Bacteriol. p:11,37.
- Pr Christian Bréchet (Mai 2014)**, lettre trimestrielle d'information n°85 : Antibiotiques quand les bactéries font de la résistance, p:1 https://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/lip85_mai_2014_resistance_aux_antibiotiques-1.pdf
- Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Zniszczol K, and Gospodarek E(2013)**. The Assessment of *Proteus mirabilis* Susceptibility to Ceftazidime and Ciprofloxacin and the Impact of These Antibiotics at Subinhibitory Concentrations on *Proteus mirabilis* Biofilms. BioMed Research International, Article ID 930876, doi.org/10.1155/2013/930876.
- Sougakoff W., Trystram D. (2003)**. Résistances aux β -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. p. 31-46.
- Stickler, D.J, j.c.lear, N.S.Mooris, S.M.Macleod, A.Downer, D.H.Cadd, W.J.Feast (2005)** . Observations on the adherence of *Proteus mirabilis* onto polymer surfaces. Journal of Applied Microbiology. pp. 1028–1033
- Tassouikat S. (2014)** . sensibilité aux antibiotiques d'*escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires à l'institut Pasteur de casablanca. These doct pharmacie, Maroc, p142

Références bibliographiques

- Vincent J-L, Martin C. (2005)**. *Sépsis sévère et choc septique*, p180, Springer, France, collection le point sur....].
- **Vidal (18 Février 2009)**. Qu'est-ce qu'un antibiotique ?
<http://eurekasante.vidal.fr/medicaments/antibiotiques/antibiotiques-c-est-quoi.html>
- VIDAL(2016)**. Mécanisme d'action des antibiotiques, <https://www.vidal.fr/> consulté le 16 mai 2016.
- **Williams, F.D. and R.H. Schwarzhoff (1978)**, Nature of the swarming phenomenon in *Proteus*. *Annu Rev Microbiol*, p. 101-22.
- (1) <http://icommentfaire.com/loisirs/quelle-est-lhistoire-de-proteus-mirabilis.html>, E-mail:web@winesino.com
- (2)<http://www.editionsdangles.fr/bibliotheque/documents/9782703305460.pdf>, 19 Avril 2016 .
- (3)<http://www.biomerieux.com/fr/concentration-minimale-inhibitrice-dun-antibiotique#sthash.eQIGQAVT.dpuf>
- (4)www.bacterio.cict.fr/bacdico/atbq/sensibilite.html site visite le 24 mars 2013

LES ANNEXES

Annex01 composition des milieux de culture

1-Muller Hinton

Pour 1litre de milieu

Hydrolysate acide de caséine	17.5 g
Infusion de viande	2.0 g
Amidon.....	1.5 g
PH : 7.4	

2-Milieu gélosé Héctoén

Composition type (g/l)

Peptone pepsique de viande	15
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Lactose	12
Salicine.....	2
Saccharose.....	12
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires.....	4
Bleude bromothymol.....	0.064
Fuchsine acide	0.1
Agar.....	18

LES ANNEXES

Annex02



Figure 03 *Proteus Mirabilis* sur milieu hektoen



Figure 02 *Proteus Mirabilis* sur milieu hektoen

LES ANNEXES

Annex03



Fiche de résultat de galerie api 20E



Figure 04 : Résultat de Galerie Api20E d'un isolat

LES ANNEXES

Annex04

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB
1	API 20E																											
2	Proteus mirabilis																											
3	T																											
4		ONPG	-																									
5		ADH	-																									
6		LDC	-																									
7		ODC	+																									
8		CIT	+																									
9		H2S	+																									
10		URE	+																									
11		TDA	+																									
12		IND	-																									
13		VP	-																									
14		GEL	+																									
15		GLU	+																									
16		MAN	-																									
17		INO	-																									
18		SOR	-																									
19		RHA	-																									
20		SAC	-																									
21		MEL	-																									
22		AMY	-																									
23		ARA	-																									
24		OX	-																									
25																												
26	API 20 E 4.0 09/2000	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	P(taxon/ profil)	P(taxon/ profil)	P(plus typique)	T	taxons	nombre d'incompatibilités
27	profil	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00E-05	Valeur de S	

API –Microsoft Exel

عنوان المذكرة : علاج الامراض الناتجة عن الاصابة ب: *Proteus Mirabilis*

المؤطر: مختار رحمانى محمد

الإسم: سهام خديجة

اللقب: بلخضر - غزلان

ملخص: الهدف من هذا العمل هو ايجاد مزيج مضاد حيوي فعال لعلاج بعض الأمراض الناجمة عن *Proteus mirabilis* في المختبر بين المضادات الحيوية التالية: سيفازولين، الأمبيسلين، أموكسيسيلين والبنسلين G. درست اثنين من عزلات البكتريا من الدجاج اللحم والدجاج البيوض. حسبنا CMI لكل عزل، وانتقلنا إلى دراسة العلاقة بين المضادات الحيوية عن طريق checkboard method. أظهر حساب MIC أن العزل من لحم الدجاج مقاوم لمعظم المضادات الحيوية التي تم اختبارها. أظهرت دراسة ارتباط المضادات الحيوية تآزر جزئي بين تركيبة بنسلين وسيفازولين وبين مزيج الأمبيسلين وسيفازولين. وجميع امزجة من المضادات الحيوية الأخرى المدروسة هي غير مبالغة أو المضافة. مزيج من المضادات الحيوية يمكن أن تحد من الإنفاق على المضادات الحيوية وتحد من ظهور مقاومة البكتيريا. قد تكون فعالة في المختبر لعلاج الالتهابات مع *Proteus mirabilis* لكن تبقى التجربة على الكائنات الحية الشرط الأساسي لتطبيق هذا العلاج مباشرة على المريض.

كلمات مفتاحية: *Proteus mirabilis* ، والمضادات الحيوية، متعددة المقاومة، MIC، مجموعة المضادات الحيوية، والتآزر، واللامبالاة

Memory title : Atibiotherapy of infection caused by *Poteus Mirabilis*

Name : Bellkhdar et Ghozlane **First name :** Sihamet khedidja **Directed by :** Rahmani mokhtar Mohamed

Abstract : The aim of this work is to seek in vitro effective antibiotic combination for the treatment of certain diseases caused by *Proteus mirabilis* among the following antibiotics: Cefazolin, Ampicillin, Amoxicillin and penicillin G.

Two isolates from farmed layer and broiler were studied. We calculated the MIC for each isolate, and we proceeded to study the association of antibiotics by the checkboard method. The calculation of the MIC showed that the isolate from chicken meat was resistant to most antibiotics tested. The study of the association of antibiotics showed a partial synergy in the combination of penicillin G and Cefazolin and the combination of ampicillin and Cefazolin. All other associations studied are indifferent or additive.

The combination of antibiotics can limit spending on antibiotics and limit the emergence of bacterial resistance. It may be effective in vitro for treating infections with *Proteus mirabilis* but the in vivo study remains the main condition for the application of this treatment in clinical pathway.

Key words: *Proteus mirabilis*, antibiotics, multi-resistance, MIC, antibiotic combination, synergy, indifference

Titre du mémoire : Antibiothérapie des infections causées par *Proteus Mirabilis*

Nom: Bellkhdar et Ghozlane **Prénom:** Sihamet et khedidja **Encadreur:** Rahmani mokhtar Mohamed

Résumé : Le but de ce travail est de rechercher *in vitro* une association d'antibiotiques efficace pour le traitement de certaines affections causées par le *Proteus Mirabilis* parmi les antibiotiques suivants : Céfazoline, ampicilline, pénicilline G et Amoxicilline.

Deux isolats provenant d'élevage de poule et de poulet de chair ont été étudiés dans la région de Laghouat du mois de Mars à Avril. Nous avons calculé la CMI pour chaque isolat, et nous avons procédé à l'étude de l'association des antibiotiques par la méthode de l'échiquier.

Le calcul de la CMI a montré que l'isolat provenant de poulet de chair était résistant à la majorité des antibiotiques testés. L'étude de l'association des antibiotiques a montré une synergie partielle dans l'association de la pénicilline G et de la Céfazoline et dans l'association de l'ampicilline et de la Céfazoline. Toutes les autres associations étudiées étaient indifférentes ou additives.

L'association des antibiotiques permet de limiter les dépenses en antibiotiques et de limiter l'apparition des résistances bactériennes. Elle peut être efficace *in vitro* pour traiter les infections à *Proteus mirabilis*, mais l'étude *in vivo* reste la condition principale de l'application de cette voie de traitement en clinique.

Mots clés : *Proteus mirabilis*, antibiotiques, multi-résistances, CMI, association d'antibiotiques, synergie, indifférence