

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN peuple - Un But - Une Foi



U.S.T.T-B

UNIVERSITE DES SCIENCES DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

N°.....

THESE

Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines
des souches d'entérobactéries isolées de pus,
d'hémoculture et de selles au CHU du point G

Présentée et soutenue publiquement le ...07./...10.../2020 devant la
Faculté de Pharmacie.

Par Mme. CISSE Hawa KANSAYE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat).

Jury

Président : Pr Amagana DOLO

Membres : Pr Sahare FONGORO

Dr Aminata MAIGA

Directeur : Pr Ibrahim Izetiegouma MAIGA

DÉDICACE ET REMERCIEMENTS

Je rends grâce à **ALLAH** le Tout Puissant, le Très Miséricordieux, l'Omnipotent, l'Omniscient, le Premier et le Dernier, le Pourvoyeur éternel de grâces ainsi qu'à son prophète **MOUHAMMAD (PSL)**, de m'avoir créé en tant qu'être humain doté de santé physique, morale et mentale me permettant ainsi de parvenir à l'accomplissement de ce travail.

Veillez agréer, Seigneur, toutes nos reconnaissances à Tes bienfaits. Aujourd'hui, je suis demandeur de miséricorde comme l'ont été dans le temps les personnes que Tu as élues en l'occurrence les prophètes **MOUSSA, ISSA, IBRAHIM (PSE)** etc. et de bien vouloir faire de moi une pharmacienne qui saura appliquer la science qu'il a apprise dans le plus grand respect des principes fondamentaux de la vie.

Je dédie ce travail à :

A ma très chère maman Assétou Samaké

Comment pourrais-je t'exprimer toute ma reconnaissance, ma joie et ma fierté de t'avoir comme mère.

Pour te décrire il me faudra quelque chose de plus que des mots, car quel que soit le terme et quel que soit l'expression, rien ne saura la tracer à mes yeux telle que mon cœur te voit et t'aperçoit. Tu n'as pas cessé de souffrir pour notre bien, tu t'es sacrifiée à notre égard, m'as prodiguée tant de conseils et une éducation exemplaire voulant faire de moi un être unique, bien éduqué.

Cette thèse, est le fruit de ton soutien permanent. Parfois, je reste ébahi devant autant de tendresse et d'amour, autant de modestie et de simplicité, ton cœur n'a jamais connu de rancœur ni d'amertume, toujours si bonne et si aimable. J'espère ne jamais te décevoir et être toujours à la hauteur de tes attentes.

Tu mérites tout le bonheur du monde. Que Dieu te préserve et t'accorde santé, bonheur et longue vie.

A mon défunt père Issa Kansaye

« Bien que les fleurs se fanent, meurent et disparaissent, leurs précieux parfums demeurent toujours. Tout comme ces parfums, ceux que nous aimons ne meurent jamais. Ils demeurent toujours dans nos cœurs, empreints dans nos précieux souvenirs et pour l'éternité ». Mon cher papa, le destin n'a pas voulu que l'on partage ces moments de joie ensemble, mais la seule chose qui me reste est de prier sans cesse pour toi afin que tu reposes en paix. Je suis sûr qu'un jour, on se retrouvera là-haut, ta bonne foi, ton humour interminable, resteront à jamais gravés dans nos mémoires. Cet humble travail, je te l'envoie du cœur, en espérant que tu seras fier de ta fille. Repose en paix.

Remerciements

A mon défunt grand-père :

Tu as toujours été pour moi l'image d'un grand-père sympathique, agréable et unique. Je garde toujours en mémoire les merveilleux souvenirs que nous avons passé ensemble, en famille. Ces instants ne reviendront certes jamais, mais ils sont bien cachés dans mon cœur. Je souhaitais tellement que tu assistes à ma soutenance de thèse, mais hélas, le destin en a voulu autrement. Aujourd'hui, je franchis une nouvelle étape dans ma vie qui, j'espère t'aura comblé.

A mon grand-père Gaoussou :

Avec toutes ses douceurs et gentillesse, il m'a toujours choyé. Sa tendresse et sa bonté resteront toujours gravées dans ma mémoire. Je prie Dieu de lui accorder une longue vie dans la santé. Tes soutiens et tes rigueurs, tes encouragements, tes conseils m'ont permis de franchir les obstacles, d'éviter certains pièges et de pouvoir surmonter les échelons, à travers ce modeste travail, je prie le bon Dieu que le lien familial continu à être serré davantage.

A tous les membres de la famille Samaké :

Ce travail est le vôtre. Il est le fruit des liens sacrés qui nous unissent. Retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères !

A Mon époux et père de ma petite fille adorée : Mamadou Cissé

Meilleur mari possible, incomparable, aimant, qui me soutient à tout moment et prend toujours soins de moi. Se marier à un homme encore sur les bancs et être la priorité de ce dernier démontre à quel point tu es adorable, exceptionnelle, un homme que toutes les femmes rêvent d'avoir. Avoir un tel amour à ses côtés est une chance inouïe. Qu'Allah t'accorde une longue vie pleine de bonheur et de succès.

A mes beaux-parents :

Je vous rends hommage à travers ce travail pour vous témoigner tous ce que j'ai comme affection à votre égard. Merci pour votre soutien et votre bonne compréhension.

A Toute la grande famille CISSE :

Que tous trouvent ici l'expression de ma très haute reconnaissance.

A tout le personnel du laboratoire de l'Hôpital du point G :

Depuis mon arrivée au sein du service, vous m'avez toujours accompagné par vos conseils qui n'ont jamais fait défaut pour le bien des patients dans un service exemplaire. Merci à tous.

A Mes amis et collaborateurs :

Fatoumata SANOGO, Djénébou Sidibé, Alima Traoré, Arboncana Maiga à tous mes collègues internes et externes de l'hôpital du point G, avec vous je me suis senti toujours en famille. Certes le chemin est encore long mais avec l'aide d'Allah nous parviendrons tous à bout.

À tous mes enseignants tout au long de mes études.

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

À tous ceux qui ont, cette pénible tâche de soulager les gens et de diminuer leurs souffrances.

À tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer leur nom.

À tous les patients qui ont fait l'objet de cette étude.

À tous les patients ayant succombé au cours de notre suivi.

À vous notre reconnaissance...

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Amagana DOLO

- **Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH**
- **Responsable de l'unité d'Immunologie du MRTC**
- **Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM)**
- **Enseignant-Chercheur à la FAPH.**

Cher maître, nous sommes honorés, comblés et gratifiés pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail et de présider ce jury.

A entendre de mes encadreurs votre générosité, votre humanisme et votre obstination pour la quête du savoir forgent le respect et l'admiration pour les apprenants que nous sommes.

Que le Tout Puissant vous donne la force d'aller encore plus loin.

Veillez croire cher maître, en l'expression de notre profonde gratitude.

À notre Maître et membre du jury

Professeur Saharé FONGORO

- **Professeur de néphrologie à la FMOS**
- **Chef de service de néphrologie et d'hémodialyse du CHU du Point G ;**
- **Praticien hospitalier du CHU Point G ;**
- **Chevalier de l'ordre de mérite de la Santé**

Cher maître, nous sommes honorés de vous compter parmi les membres de ce jury malgré vos multiples occupations.

Homme de principe et de rigueur, vos qualités humaines et scientifiques, votre quête obstinée du savoir et du travail bien fait font de vous un maître admiré par ses élèves.

Cher maître, nous avons beaucoup appris auprès de vous.

Ces quelques mots pour vous témoigner notre reconnaissance.

Veillez accepter, cher maître, nos sincères remerciements et soyez assuré de notre profonde gratitude.

À notre Maître et membre du jury

Dr Aminata MAIGA

- **Maitre assistante de Bacteriologi-virologie à la FMOS**
- **Praticienne hospitalière au laboratoire CHU du Point G.**

Cher maître,

Nous sommes honoré de vous compter parmi les membres de ce jury malgré vos multiples occupations.

Ces valeurs professionnelles et humaines que vous portez, justifient toute l'estime que nous avons pour vous.

Les mots seraient bien faibles pour qualifier notre gratitude pour l'amélioration de ce travail.

Veillez recevoir ici cher maître, nos sentiments respectueux et plein de reconnaissance.

À notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Ibrahim Izétiégouma MAIGA,

- **Professeur de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;**
- **Chef de service du Laboratoire de Biologie Médicale et Hygiène Hospitalière du CHU du Point G.**

Cher maître,

Plus qu'un enseignant de mérite, vous êtes un père, un éducateur de choix.

Vous avez allié sagesse et l'humilité, écoute et conseils pour nous transmettre le savoir, l'éducation, le respect, la tolérance, la persévérance, la disponibilité et le tout dans la discipline.

Cher maître, nous avons eu la chance de bénéficier de votre encadrement dans le service de laboratoire.

Puisse Dieu le tout puissant vous accorder santé et longévité afin que soient menés à bien vos projets, et que d'autres comme nous, puissent bénéficier de votre savoir et de vos connaissances.

En ce moment solennel, l'occasion nous est offerte de vous réitérer, notre profonde gratitude.

ABRÉVIATIONS

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SIGLES

ADH: Argine dihydrolase

ADN=DNA: Acide désoxyribonucléique

API: Appareil et procédés d'identification

BLASE=BLSE: Bêta-lactamase à spectre élargi ou étendu

CAZ-1: Ceftazidimase

CBN: Cephalosporinase de bas niveau

C1G: Céphalosporine de 1ere generation

C2G: Céphalosporine de 2e generation

C3G: Céphalosporine de 3e generation

C4G: Céphalosporine de 4e generation

CHN: Cephalosporinase de haut niveau

CHU: Centre hospitalier universitaire

CIT: Citrate trisodium

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CTX-M: Cefotaximase-Munich

ECAD: *E coli* à adherence diffuse

ECEA: *E coli* enteroaggregatifs

ECEH: *E coli* enterohemorragiques

ECEI: *E coli* enteroinvasifs

ECEP: *E coli* enteropathogènes

ECET: *E coli* enterotoxinogènes

FMOS : Faculté de médecine et d'odontostomatologie

G+C%: Guanine + Cytosine en pourcentage

GEL: Gelatinase

GES-1: Guyana Extended Spectrum

GLU: Glucose

H₂S: Sulfure d'hydrogène

IND: Indole

LPS: Lipopolysaccharides

LAC: Lactose

LT: Thermolabile

LDC: Lysine decarboxylase

MOB: Mobilité

NIT: Nitrate

ONPG: Ortho-nitro-phenyl-B-D-galactopyranoside

OXA: Oxacillinase

ODC: Ornithine decarboxylase

PDA: Phenylalanine desaminase

PBN: Penicillinase de bas niveau

PBP: Penicillin Binding protein

PHN: Penicillinase de haut niveau

PLPs: Proteines de liaison aux pénicillines

SFO-1: Serratia fonticola

SGI1: Salmonella genomique island1 (îlot genomique de Salmonella)

SHV: Sulfhydryl-Variable

ST: Thermostable

TDA: Tryptophane desaminase

TRI: TEM resistant aux inhibiteurs

TEM: Nom du malade (Temoniera)

VP: Voges-Proskauer

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries	8
Tableau II : Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement.	43
Tableau III : Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'origine	43
Tableau IV: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du service et du prélèvement.	44
Tableau V: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce.	45
Tableau VI : Répartition des souches en fonction de l'origine et de l'espèce.	46
Tableau VII: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement et de l'espèce	47
Tableau VIII : Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries.	48
Tableau IX: Répartition des souches d'entérobactéries selon les phénotypes de résistance	49
Tableau X: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et du phénotype	50
Tableau XI : Distribution de 174 souches d'entérobactéries en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine	51
Tableau XII: Distribution de 84 souches d'entérobactéries isolées de pus en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine	51
Tableau XIII: Distribution de 75 souches d'entérobactérie isolées de coproculture en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.	52
Tableau XIV: Distribution de 134 souches d' <i>Escherichia coli</i> en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.	52
Tableau XV: Prévalence des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.	53
Tableau XVI : Distribution de 174 souches d'entérobactéries en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et du prélèvement.	53

Tableau XVII: Sensibilité aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi _____	54
Tableau XVIII: Sensibilité aux aminosides de 96 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi _____	55
Tableau XIX: Sensibilité aux quinolones de 96 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi _____	55
Tableau XX: Sensibilité aux autres antibiotiques de 95 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi _____	55
Tableau XXI: Sensibilité aux antibiotiques de 17 souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de bas niveau (PBN) _____	56
Tableau XXII: Sensibilité aux antibiotiques de 29 souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de haut niveau (PHN) _____	57
Tableau XXIII: Sensibilité aux antibiotiques de 8 souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de bas niveau (CBN)._____	58
Tableau XXIV: Sensibilité aux antibiotiques de 4 souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de haut niveau (CHN)._____	59
Tableau XXV: Sensibilité aux antibiotiques de 17 souches d'entérobactéries du phénotype sensible aux β -lactamines. _____	60
Tableau XXVI: Sensibilité aux antibiotiques de 77 souches d' <i>Escherichia coli</i> productrices de BLASE. _____	61

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structures de quelques β -lactamines	16
Figure 2 : Structure chimique de la doxycycline	22
Figure 3: Structure chimique de l'acide nalidixique	23
Figure 4: Structure chimique de la norfloxacin	23
Figure 5: Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.	28
Figure 6: Bouchon de champagne	31

Table des matières

I. INTRODUCTION	2
OBJECTIFS	3
Objectif général :	3
Objectifs spécifiques :	3
II. GENERALITES	5
2.1 Les entérobactéries	5
2.1.1 Définition et classification :	5
2.1.2 Habitat	5
2.1.3 Caractères bactériologiques.....	6
2.1.4 Pouvoir pathogène.....	8
2.2 Antibiotiques : (7-16, 21-28, 46).....	13
2.2.1 Définition	13
2.2.2 Classification des antibiotiques.....	14
2.2.3 Résistance (25, 46):.....	24
2.3 Bêta-lactamases à spectre élargi (BLASE) :	29
III. METHODOLOGIE	33
1 Lieu de travail.....	33
2 Type et période d'étude.....	33
3 Souches étudiées	33
4 Echantillonnage.....	33
4.1 Critères d'inclusion	33
4.2 Critères de non inclusion	33
4.3 Echantillonnage.....	33
5 Collecte de données.....	33
5.1 Support de données :	33
5.1.1 Isolement des souches d'entérobactéries.....	33
5.1.2 Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries par la technique de diffusion en gélose	39
5.1.3 Technique de collecte.....	40
6 Analyse des données	41
IV. RESULTATS.....	43
1 Résultats globaux.....	43
2 Répartition des souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement.....	43
3 Origine des souches	43
4 Distribution des souches en fonction de l'origine et du prélèvement (tableau IV) ...	44
5 Les différentes espèces d'entérobactéries isolées.....	45
6 Répartition des souches en fonction des services et de l'espèce :	46

7	Distribution des souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement et de l'espèce	47
8	Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries	48
8.1	Phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	49
8.2	Répartition des souches en fonction de l'espèce et du phénotype de résistance aux β -lactamines.....	50
8.3	Prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi en fonction de l'origine	51
8.4	Prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi en fonction du prélèvement.....	53
8.5	Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries selon le phénotype de résistance aux β -lactamines.....	54
8.7	Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de haut niveau (PHN).....	57
8.8	Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de bas niveau (CBN).....	58
V.	COMMENTAIRE ET DISCUSSION	63
1.	Méthodologie	63
VI.	CONCLUSION.....	69
VII.	RECOMMANDATIONS	70
VIII.	Références.....	71
IX.	ANNEXES.....	78
	FICHE SIGNALÉTIQUE	78
	SERMENT DE GALIEN	80

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

La connaissance de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est indispensable aux choix thérapeutiques. Ces dernières années, l'évolution de la résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines a été liée à l'apparition de certains mécanismes de résistance comme la production de bêta-lactamases à spectre élargi (BLASE), l'hyperproduction de pénicillinases, de céphalosporinases ou la production de bêta-lactamases de type TRI (1).

Le CHU du Point G est frappé par une augmentation incessante de la prévalence des entérobactéries productrices de BLASE qui est de 20,3 % en 2004, 21,3 % en 2005 et 26,8 % en 2006. Les souches communautaires ne sont pas épargnées (2).

La résistance aux antimicrobiens (et en particulier aux antibiotiques) progresse et il n'y a guère de perspectives de mettre au point de nouvelles classes d'antibiotiques à court terme (3).

De nombreuses études relatent la progression continue de la résistance aux antimicrobiens des entérobactéries et incriminent de nos jours plus particulièrement, les BLSE de type CTX-M (4).

La résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). Alors que ce problème était essentiellement d'ordre hospitalier, la diffusion aujourd'hui à grande échelle dans le domaine communautaire de ce type de résistance laisse augurer un problème majeur de santé publique (5).

Notre travail avait pour but de mettre en exergue ce problème à travers une étude bactériologique intéressant les souches d'entérobactéries isolées d'hémoculture, de pus et de coproculture au CHU du Point G.

OBJECTIFS

Objectif général :

Etudier la prévalence des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'hémoculture, de pus et de coproculture au CHU du Point G en 2016.

Objectifs spécifiques :

- Identifier les principaux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'hémoculture, de pus et de coproculture ;
- Etudier la sensibilité aux antibiotiques des principaux phénotypes de résistance aux bêta-lactamines.

GÉNÉRALITÉS

II. GENERALITES

2.1 Les entérobactéries

2.1.1 Définition et classification :

La famille des *Enterobacteriaceae* est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques communs :

- ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6µm de long et 0,3 à 1µm de large ;
- mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles ;
- se développant en aéro-anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire ;
- acidifiant le glucose par voie fermentative (à la différence des *Pseudomonas*) avec souvent production de gaz ;
- ne possédant pas d'oxydase (à la différence de *Vibrio* et *Pasteurella*).
- réduisant les nitrates en nitrites.

Les *Enterobacteriaceae* ont un G+C% du DNA compris entre 38 et 60 mol%.

La famille des *Enterobacteriaceae* regroupe différents genres :

- Certains genres sont anciennement décrits et le plus souvent rencontrés en pathologie ; ce sont : *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Yersinia*, *Edwardsiella*, etc...
- D'autres genres, plus récemment décrits, sont parfois trouvés dans l'environnement et sont rarement isolés chez l'homme ; ce sont : *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Ewingella*, *Kluyvera*, *Koserella*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Ob esumbacterium*, *Rahnella*, *Tatumella*, *Trabulsiella*, *Xenorhabdus*, *Yokenella* (6).

2.1.2 Habitat

Comme leur nom l'indique, les entérobactéries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin (le côlon essentiellement). On les trouve chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. En dehors du tube digestif, elles peuvent

être transitoirement présentes sur différentes parties du revêtement cutanéomuqueux (7).

2.1.3 Caractères bactériologiques

2.1.3.1 Caractères cultureux :

Les *Enterobacteriaceae* se développent bien dans un bouillon ou sur gélose ordinaire incubés 18 heures à 37 °C. Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

- Les formes S (smooth) ont l'aspect habituel au sortir de l'organisme. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4mm de diamètre.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
- En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- Les colonies rugueuses sont habituellement avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella* Paratyphi B.
- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (8).

2.1.3.2 Caractères antigéniques :

L'identification des *Enterobacteriaceae* se fait par l'étude des caractères biochimiques. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinats croisés non spécifiques.

- Les antigènes O

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation.

La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée.

- Les antigènes H

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

Les réactions d'agglutination se produisent rapidement et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation.

- Les antigènes K

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B, d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. Ils sont détruits par une ébullition de 2 heures.

Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99).

- L'antigène Kunin

Cet antigène commun des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique.

Des antisérums dirigés spécifiquement contre chacun des antigènes bactériens sont préparés en utilisant la méthode de l'absorption spécifique des anticorps de Castelcani. Des anticorps qui se sont fixés sur l'antigène bactérien correspondant forment des agglutinats. Après centrifugation, il ne reste plus dans le surnageant que des anticorps qui n'ont pas été en contact avec l'antigène (8).

2.1.3.3 Caractères biochimiques :

Les caractères d'identification sont essentiellement "biochimique" et utilisent des tests qui étudient le mécanisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc...), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz.

Le tableau ci-dessous résume les caractères d'identification des genres le plus fréquemment rencontrés ;

Tableau I: Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries (9).

	Glu	Lac	ONPG	Ind	VP	Cit	Mob	Urée	PDA	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+
<i>Shigella</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+ ²	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>Yersinia</i>	+	-	+	+/-	+	-	+	+	-	-

Glu: Glucose, Lac: Lactose, Ind: Indole, Cit: Citrate, Mob: Mobilité, PDA: Phénylalanine désaminase, ONPG: Ortho-Nitro-phényl-β-D-Galactopyranoside, H₂S: sulfure d'hydrogène

2.1.4 Pouvoir pathogène

2.1.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire de bactériologie. Mais c'est aussi le premier germe responsable d'infections communautaires.

Les infections à *E. coli* sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhées et infections extra-intestinales.

Les souches responsables d'infections extra-intestinales sont isolées principalement d'infection urinaire. *E. coli* est de loin le premier germe responsable d'infection urinaire en l'absence de malformations ou de reflux vésico-urétral, les souches dites « uropathogènes » parviennent à coloniser l'arbre urinaire grâce à des adhésines (*piliou fimbriae*). *E. coli* est également responsable d'infections materno-foetales, de prostatites et de suppurations diverses à partir de la flore digestive (infections des voies biliaires, péritonites, salpingites, infections postopératoires).

Toutes ces infections peuvent se compliquer de septicémies. Chez le nouveau-né, la complication la plus redoutable est la méningite associée à la présence de l'antigène capsulaire K1 similaire à celui de *Neisseria meningitidis* du groupe B. Les souches responsables d'infections intestinales altèrent la muqueuse intestinale par différents mécanismes. On les classe de la manière suivante :

- **Les ECEP** (*E. coli* entéropathogènes) responsables de gastro-entérites infantiles. Une douzaine de sérotypes est répertoriée en France ;
- **Les ECEI** (*E. coli* entéro-invasifs) qui ont la propriété de pénétrer dans les cellules et de provoquer des syndromes dysentériques ;
- **Les ECET** (*E. coli* entérotoxigènes) qui sécrètent des toxines de deux types, ST (thermostable) et LT (thermolabile), et qui possèdent en outre des facteurs d'adhésion à la muqueuse intestinale. Ces souches sont responsables de syndromes cholériques qui touchent principalement les enfants des pays en voie de développement et les voyageurs ;
- **Les ECEH** (*E. coli* entérohémorragiques) responsables d'épidémies de diarrhées sanglantes d'origine alimentaire pouvant se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant par la production de shigatoxines.

- **Les ECEA** (*E. coli* entéroaggrégatifs) responsables de diarrhées chroniques dans les pays en voie de développement ;
- **Les ECAD** (*E. coli* à adhésion diffuse) qui seraient responsables de diarrhées aqueuses chez l'enfant.

2.1.4.2 *Shigella*

Ce genre comprend 4 espèces ou sous-groupes A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs sérotypes : groupe A, *S. dysenteriae* avec une quinzaine de sérotypes ; groupe B, *S. flexneri* avec une dizaine de sérotypes ; groupe C, *S. boydii* avec une vingtaine de sérotypes; et groupe D, *S. sonnei* avec un seul sérotype mais plusieurs biotypes. De nouveaux sérotypes sont en cours de confirmation pour les trois premières espèces. *S. dysenteriae* type 1 ou bacille de Shiga est l'agent de la dysenterie bacillaire stricto sensu. Les autres *Shigella* provoquent des syndromes dysentériques. Il existe en fait de grandes variations dans la gravité des infections, la forme la plus grave étant due au bacille de Shiga.

2.1.4.3 *Salmonella*

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes à l'intérieur du genre *Salmonella* : les salmonelles majeures, agents de fièvres typhoïde et paratyphoïdes *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*.

2.1.4.4 *Citrobacter*

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des saprophytes répandus dans l'environnement et sur la nourriture végétale. Elles colonisent l'intestin de l'homme et, chez des sujets prédisposés, elles peuvent être considérées comme potentiellement pathogènes, pouvant donner des infections principalement du tractus urinaire. Toutes les espèces, à l'exception de *C. rodentium*, peuvent être isolées de prélèvements cliniques chez l'homme ; elles sont considérées comme des bactéries pathogènes opportunistes et la plupart de ces infections sont d'origine nosocomiale. *C. koseri* a été isolé lors d'épidémies de méningites néonatales.

2.1.4.5 *Yersinia*

Y. pestis est responsable de la peste. Le couple puce-rongeur constitue le réservoir, mais la bactérie survit plusieurs mois dans le sol ou les terriers. La puce transmet *Y. pestis* de rongeur à rongeur et accidentellement des rongeurs à l'homme. À partir de la piqûre, la multiplication bactérienne entraîne une nécrose tissulaire puis un bubon ou adénite pesteuse qui siège le plus souvent au niveau de l'aîne, plus rarement au cou ou à l'aisselle, localisation dépendant du siège de la porte d'entrée.

Y. pseudotuberculosis a pour réservoir le sol ; l'homme se contamine par contact direct avec des animaux proches de l'homme (chat, rongeurs domestiques) qui éliminent la bactérie dans leurs fèces, voire par ingestion d'aliments souillés.

Y. enterocolitica a un réservoir très vaste : environnement (eaux, sols), ou animaux (rongeurs, porcs, etc.), avec souches adaptées ou non à des espèces animales voire à l'homme.

Y. pseudotuberculosis et *Y. enterocolitica* sont responsables des yersiniose, infections qui se présentent sous formes digestives (adénolymphite mésentérique, plus rarement iléite chez les grands enfants ou les adultes, gastro-entérites fébriles chez les enfants de moins de 6 ans), septicémiques sur terrain fragilisé, ou extradigestives. *Y. enterocolitica* est responsable d'entérocrite chez le jeune enfant, d'adénite mésentérique chez l'adolescent et l'adulte jeune. Les formes septicémiques sont plus rares et surviennent sur un terrain fragilisé, immunodéprimé, et des manifestations cliniques variées ont été décrites (abcès profonds, endocardite, méningite, etc...). A noter la possibilité de choc septique lors d'une transfusion de globules rouges ou de plaquettes, *Y. enterocolitica* étant en effet capable de se multiplier à 4°C. *Y. pseudotuberculosis* est surtout responsable d'adénite mésentérique.

2.1.4.6 *Edwardsiella*

Ce genre ne comporte qu'une seule espèce en bactériologie médicale : *Edwardsiella tarda*. Cette espèce, hôte de l'intestin des reptiles en région tropicale, est parfois isolée de coprocultures chez l'homme vivant dans ces mêmes régions. Un pouvoir entéropathogène est suspect. Elle peut également se comporter comme pathogène opportuniste.

En première approche, lors des isolements à partir de selles, il s'agit d'une *Salmonella* indole positive. La résistance constante à la colistine est l'élément d'orientation majeur.

2.1.4.7 *Enterobacter, Pantoea*

Les *Enterobacter*, présents dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif. Ce sont des pathogènes opportunistes responsables, en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. *Enterobacter sakazakii* a, de plus, été responsable de méningites chez des nouveau-nés nourris au biberon avec des laits en poudre contaminés. *Pantoea agglomerans* étant une bactérie phytopathogène du milieu extérieur, la source de contamination des malades devra être recherchée dans l'environnement.

2.1.4.8 *Proteus, Providencia, Morganella* :

Ce sont toutes des bactéries pathogènes opportunistes. Néanmoins, une distinction doit être faite entre *P. mirabilis* et les autres membres de la tribu. En effet, si *P. mirabilis* est souvent isolé d'infections du tractus urinaire chez des malades ambulatoires, les autres appartiennent aux germes hospitaliers mineurs causant souvent de petites épidémies d'infections urinaires sur sonde dans les services de soins intensifs ou de gériatrie. La distinction porte aussi sur la sensibilité aux antibiotiques. *P. mirabilis* ne produit pas de β -lactamase naturelle, mais près de la moitié des souches expriment une pénicillinase d'origine plasmidique ou chromosomique portée par l'îlot génomique SGI1 décrit chez *Salmonella* Typhimurium. *P. vulgaris* et *P. penneri* possèdent une β -lactamase particulière

dénommée céfuroximase qui rend ces espèces résistantes aux pénicillines du groupe A et aux céphalosporines de 1^{ière} et 2^{ème} générations (à l'exception des céphamycines comme la céfoxitine), mais dont l'activité enzymatique est inactivée par l'acide clavulanique.

2.1.4.9 *Serratia*

Ce sont toutes des bactéries du milieu extérieur. Elles se comportent comme des pathogènes opportunistes avec un double tropisme : arbres respiratoire et urinaire. *S. marcescens* est l'espèce la plus fréquente au sein de ce genre (90 % des isollements humains), suivie de *S. liquefaciens*, puis *S. rubidea*. Les autres espèces sont beaucoup plus rares et *S. entomophila* n'a pas été trouvée chez l'homme.

2.1.4.10 *Klebsiella*

K. pneumoniae subsp. *rhinoscleromatis* peut être responsable du rhinosclérome ; il s'agit d'un épaissement chondroïde des muqueuses labioglossopharyngées. *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* est responsable de l'ozène qui associe rhinite atrophique fétide et des processus destructifs des bronches. *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* et *K. oxytoca* sont isolées principalement dans les infections urinaires ou respiratoires parfois compliquées de septicémies, surtout en milieu hospitalier ou elles seraient responsables de 10 % des infections nosocomiales (7).

2.2 Antibiotiques : (7-16, 21-28, 46)

2.2.1 Définition

Pendant longtemps, on a appelé antibiotique (terme créé par Selman WAKSMAN) toute substance chimique produite par un micro-organisme, champignon (*Penicillium*, *Cephalosporium*) ou bactérie (*Bacillus* et surtout *Streptomyces*), pouvant inhiber la croissance ou détruire d'autres micro-organismes. Cette définition est aujourd'hui trop restrictive et doit être abandonnée car des molécules obtenues par synthèse ou par modification chimique d'une molécule naturelle peuvent être douées des mêmes propriétés.

Un antibiotique est donc actuellement défini comme une substance, d'origine biologique ou synthétique, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du

métabolisme des bactéries (agents antibactériens) ou des champignons (agents antifongiques).

2.2.2 Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité.

Tout en adoptant la classification des antibiotiques en grandes familles, nous étudierons uniquement les antibiotiques utilisés sur les bacilles à Gram négatif.

- Les grandes familles d'antibiotiques

- les β -lactamines (action bactéricide)
- les **Macrolides, Lincosamides et Streptogramines** (action bactériostatique)
- Les **Aminosides** (action bactéricide)
- Les **Sulfamides** (action bactériostatique)
- Le **Chloramphénicol** (action bactériostatique)
- **5-nitro-imidazolés** (action bactéricide)
- Les **Polymyxines** (action bactéricide)
- Les **Tétracyclines** (action bactériostatique)
- Les **Glycopeptides** (action bactéricide)
- Les **Quinolones** (action bactéricide)
- Les **rifamycines**
- Les Antibiotiques divers : - **acide fusidique**
- **fosfomycine.**

2.2.2.1 Les β -lactamines :

Les β -lactamines ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance. Il existe de nombreuses variétés de β -lactamines, ayant toutes en commun le cycle β -lactame. Elles constituent la famille la plus fréquemment utilisée dans le monde, pour leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide temps-dépendant, leur faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles.

Les antibiotiques formant la famille des β -lactamines, sont utilisés pour le traitement d'environ 55% de toutes les infections bactériennes, en raison de leur grande efficacité et au peu d'effets secondaires qui leur sont attribués.

2.2.2.1.1 Structure :

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame qui est formé de quatre membres : trois atomes de carbones et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules.

2.2.2.1.2 Mode d'action des β -lactamines :

Les β -lactamines, analogues structuraux de la terminaison peptidyl-D-alanyl-D-alanine du peptidoglycane, ont pour fonction d'interagir avec un groupe de protéines, les PLPs, également appelées protéines de fixation de la pénicilline (PBP, pour Penicillin Binding Protein), des enzymes responsables de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane. L'inhibition de ces transpeptidases, impliquées dans l'étape finale de la biosynthèse de la paroi cellulaire, le cycle β -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire.

2.2.2.1.3 Familles des β -lactamines :

La famille des β -lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes.

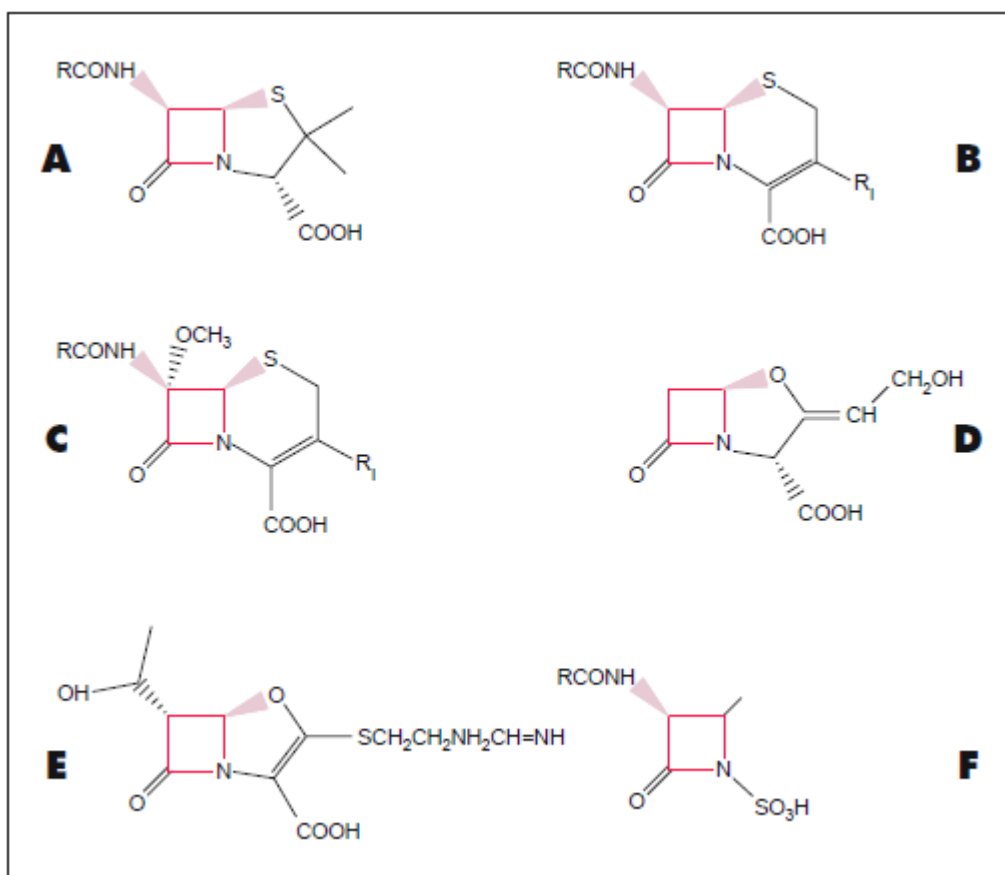


Figure 1: Structures de quelques β -lactamines (15).

A : pénicillines ; B : céphalosporines ; C : céphamycines ; D : acide clavulanique ; E : Imipénème (carbapénème) ; F : monobactames.

2.2.2.1.3.1 Les pénicillines : (noyau péname)

Dont font partie la pénicilline G, la méticilline et les Isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les aminopénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréidopénicillines (pipéracilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les amidinopénicillines (mécillinam).

2.2.2.1.3.2 Les céphalosporines : (noyau céphème) :

Les céphalosporines sont des antibiotiques appartenant à la grande famille des bêta-lactamines.

La mise en évidence de cette famille a été initiée en 1945 par le professeur BROTZU en Sardaigne. Il a mis en évidence l'activité antibactérienne du filtrat d'un champignon dénommé *Cephalosporium acremonium*, isolé à partir d'eau de mer prélevée à proximité d'une décharge publique.

Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif.

Actuellement, il existe quatre générations de céphalosporines classées selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité :

- Première génération (C1G) : Comme la cefalotine, l'acéfaloridine, sont essentiellement efficaces contre les bactéries pathogènes Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae* et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinases inductibles comme *E. coli* et *Salmonella enterica*. Ce sont les moins stables vis-à-vis de l'hydrolyse par les bêta-lactamases.
- Deuxième génération (C2G): Comme le céfamandole, la céfoxitine, sont caractérisées par une meilleure résistance aux β -lactamases à large spectre et un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries, avec des variations selon les molécules.
- Troisième génération (C3G): Telles que céfotaxime, ceftazidime, se distinguent par un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des β -lactamases comme les pénicillinases et les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.
- quatrième génération (C4G): Telles que céfépime, cefpirome, sont à large spectre et présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases hyperproduites. Elles sont une substitution possible aux céphalosporines de troisième génération pour le traitement de germes résistants.

2.2.2.1.3.3 Les carbapénèmes : (noyau pénème)

Sont les plus efficaces actuellement, exemples : imipenème, méropénème. Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.

L'imipénème est résistant à la plus part des β -lactamases, y compris les β -lactamases à spectre élargi. De très rares souches d'entérobactéries capables de dégrader l'imipénème ont été décrites.

2.2.2.1.3.4 Les monobactames : (noyau azétidine) :

Représentés par l'aztréonam, qui a une activité sur les bacilles à Gram négatif comparable à celles des céphalosporines de 3^{ème} génération, mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies.

Ils existent également des inhibiteurs de β -lactamases : les clavames (acide clavulanique) et les pénicillines-sulfones (tazobactam et sulbactam). Ces molécules sont des inhibiteurs compétitifs des β -lactamases actives sur les pénicillines. Ils sont dépourvus d'activité antibactérienne car ils n'inhibent pas les PLPs, ils sont utilisés en association avec d'autres β -lactamines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline).

2.2.2.2 Les aminosides

2.2.2.2.1 Origine

La streptomycine, isolée de *Streptomyces griseus* en 1944 par WAKSMAN, est un bel exemple d'aminoglycoside important. La streptomycine a été l'antibiotique le plus célèbre après la découverte de la pénicilline, car il s'agissait de la première substance bactéricide qui manifestait une activité efficace lors du traitement d'une maladie mortelle, en l'occurrence la méningite tuberculeuse.

Les autres aminosides naturels produits par des souches de *Streptomyces* sont la néomycine, la kanamycine, la tobramycine.

La gentamicine et la sisomicine sont produites par les souches *d'Actinomyces*.

Ces composés naturels ont servi de base pour l'élaboration des produits semi-synthétiques (amikacine, isépamicine, nétilmicine) développés afin d'obtenir des molécules insensibles à l'inactivation par les bactéries devenues résistantes aux aminoglycosides naturels.

2.2.2.2.2 Structure :

Les aminoglycosides sont des molécules polaires et polycationiques.

Leur structure de base commune comporte un aminocyclitol, auquel se lient par des ponts glycosides, 2 (ou exceptionnellement) oses. Ces cycles peuvent porter des substituants dont les plus importants sont les groupes hydroxyles et les groupes basiques.

2.2.2.2.3 Les Aminosides étudiés : amikacine et gentamicine

❖ Spectre d'activité

Antibiotiques à spectres larges, habituellement bactéricides :

- ✓ Cocci et Bacilles à Gram positif (les Streptocoques et le pneumocoque ont une résistance naturelle)
- ✓ Cocci et Bacilles à Gram négatif sauf les *Providencia* ;
- ✓ Mycobactéries
- ✓ Toutes les bactéries anaérobies sont résistantes

❖ Mode d'action

Les aminoglycosides sont des antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique, suite à leur fixation sur la sous-unité 30 S du ribosome bactérien.

2.2.2.3 Les sulfamides

2.2.2.3.1 Historique

Les propriétés anti-infectieuses d'un colorant azoïque (le PRONTOSIL) ont été reconnues en 1933 par le pharmacologue allemand **DOMAG** ; cette découverte a été le point de départ de la chimiothérapie anti-infectieuse.

En 1935, l'équipe de l'institut Pasteur de Paris (FOURNEAU, TREFOUET, NITTI ET, BOVET) démontra que la structure active du produit était l'élément p-aminobenzène-sulfonamide (ou sulfanilamide, contracté en « sulfamide »).

Puis l'intérêt thérapeutique des sulfamides a diminué avec l'utilisation d'antibiotiques, souvent plus efficaces et moins dangereuses. L'adjonction à un sulfamide d'une substance qui renforce son efficacité (triméthoprime, pyriméthamine) a relancé la sulfamidothérapie sans lever toutefois la crainte de survenue d'effets toxiques.

2.2.2.3.2 Spectre d'activité

Leur spectre est théoriquement large mais certaines espèces présentent une résistance naturelle : *Enterococcus faecalis* et les *Lactobacillus* ; *Pseudomonas aeruginosa* est peu sensible. De nombreuses souches, de toutes espèces, ont acquis une résistance. L'action des sulfamides est seulement bactériostatique.

2.2.2.3.3 Mécanisme d'action

Le mécanisme réside dans une inhibition compétitive de la dihydroptéroate synthétase ; la synthèse de l'acide dihydrofolique est ainsi bloquée.

2.2.2.3.4 Association : Sulfamide-triméthoprim

Le Triméthoprim est un inhibiteur des folates. Il appartient à la famille des 2-4-diamino-pyrimidines qui sont des antibactériens et des antiparasitaires.

Le Triméthoprim agit dans le blocage enzymatique de la synthèse des folates, juste après les sulfamides.

L'Association Triméthoprim-sulfamide la plus utilisée est le **cotrimoxazole** (BACTRIM®). Les deux molécules bloquent la synthèse des folates à deux stades différents, ce qui renforce leur activité antibactérienne.

L'intérêt de cette association est que les mutants résistants aux deux composants apparaissent moins rapidement et l'association a un effet bactéricide.

2.2.2.4 Le Chloramphénicol

2.2.2.4.1 Historique :

Le Chloramphénicol fut historiquement, le premier antibiotique à large spectre, extrait en 1947 par EHRLICH, de *Streptomyces venezuelae*, mais obtenu actuellement par synthèse, de même que son dérivé, le thiamphénicol (thiophénicol).

2.2.2.4.2 Spectre d'activité

Spectre large, comprenant théoriquement la plupart des espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que les *Rickettsia* et les *Chlamydiales*.

2.2.2.4.3 Mécanisme d'action

Le Chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique, inhibiteur de la synthèse des protéines bactériennes (mais il peut avoir, à forte concentration et sur certains germes comme le pneumocoque, les *Haemophilus* ou les *Neisseria*, une action bactéricide).

2.2.2.5 Les polymyxines

2.2.2.5.1 Historique

Ce sont des polypeptides cycliques découverts simultanément en 1947 par trois groupes de chercheurs. Les polymyxines sont produites par *Bacillus polymyxa*.

Cinq produits principaux constituent ce groupe : les polymyxines A, B, C, D, E.

Tous sont toxiques en particulier pour le rein, à des degrés divers.

Les polymyxines A, C et D sont trop toxiques pour être utilisés en clinique ; seules le sont la polymyxine B et surtout la polymyxine E ou colistine.

2.2.2.5.2 Mécanisme d'action

Ils se fixent sur certains constituants des membranes interne et externe des bactéries (phospholipides, lipopolysaccharides), et modifient la perméabilité de ces structures.

2.2.2.5.3 Polymyxine étudiée : Colistine

❖ Spectre d'activité :

Antibiotique bactéricide à spectre étroit, elle agit sur *Vibrio cholerae* et les entérobactéries (sauf *Proteus*, *Serratia*, *Providencia*, *Edwardsiella*).

2.2.2.6 Les tétracyclines

2.2.2.6.1 Historique

La chlortétracycline (auréomycine) est l'une des tétracyclines les mieux connues. Cet antibiotique, première tétracycline, a été découvert en 1948 à partir de *Streptomyces aureofaciens*. Aujourd'hui les tétracyclines sont obtenues par synthèse.

2.2.2.6.2 Structure

Les tétracyclines doivent leur nom à leur structure tétracyclique commune (noyau naphtacène-carboxamide), sur laquelle viennent se greffer des substituants au niveau des positions indiquées par un astérisque.

Les différents produits sont : Tétracycline, Oxytétracycline, Chlortétracycline, Déméthylchlortétracycline, Rolitétracycline, Métacycline, Doxycycline, Minocycline, Tigécycline.

2.2.2.6.3 Mode d'action

Inhibition de la synthèse protéique au niveau des ribosomes, par liaison avec les protéines de la sous-unité 30 S, mais peut être aussi en moindre proportion sur la sous-unité 50.

Doxycycline :

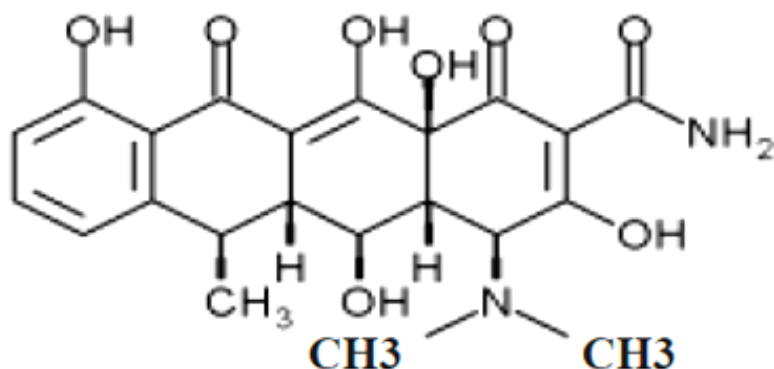


Figure 2 : Structure chimique de la doxycycline (27)

❖ Spectre d'activité

Elles sont actives, théoriquement, sur de très nombreuses espèces à Gram positif ou à Gram négatif, sur les *Rickettsia*, les *Chlamydia*, les Mycoplasmes.

2.2.2.7 Les quinolones (23)

2.2.2.7.1 Historique

Les Quinolones sont des antibiotiques de synthèse chimique. En effet, en 1958, les chercheurs s'étaient aperçu de l'activité d'un produit secondaire obtenu lors de la synthèse de la chloroquine (connue, elle, depuis 1939): la 7-chloroquine.

En 1962, la première quinolone directement dérivée de la 7-chloroquine vit le jour : **l'acide nalidixique**, actif sur certains bacilles à Gram négatif

Ce n'est que dans les années 80 que virent le jour les **fluoroquinolones**.

❖ **Quinolones de première génération : l'acide nalidixique**

Elle exerce une action bactéricide sur la plupart des bactéries à Gram négatif responsables des infections urinaires.

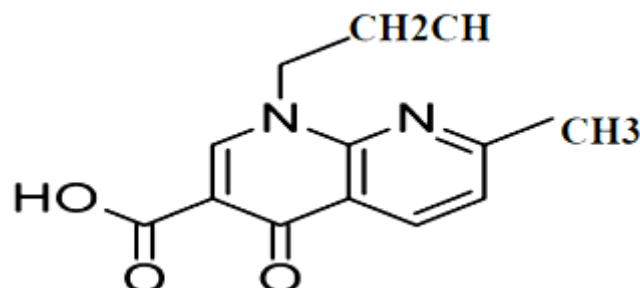


Figure 3: Structure chimique de l'acide nalidixique (23)

❖ **Quinolones de deuxième génération ou Fluoroquinolones: la norfloxacin**

Ces quinolones présentent de nombreux avantages. Le spectre antibactérien est large, portant surtout sur les entérobactéries (y compris les *Salmonella*) mais aussi les *Legionella*, le staphylocoque méthicillino-sensible (mais non le Streptocoque)), parfois les *Pseudomonas*, certaines mycobactéries, les *Bacteroides*.

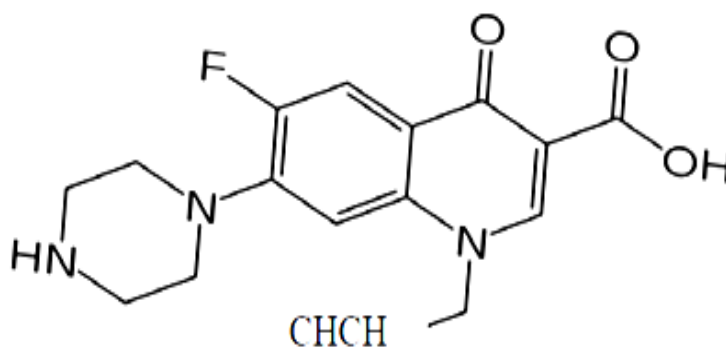


Figure 4: Structure chimique de la norfloxacin (23)

2.2.2.7.2 Mécanisme d'action

Ce sont des inhibiteurs de l'ADN-gyrase bactérienne, enzyme indispensable à la préparation de l'ADN pour sa transcription ; cette inhibition est létale pour la bactérie (les quinolones sont donc bactéricides).

2.2.3 Résistance (25, 46):

2.2.3.1 Notion de la résistance bactérienne :

Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer.

2.2.3.2 Types de résistance:

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux β -lactamines (exemple: *Escherichia coli*), soit elles sont naturellement résistantes (exemple : les *Klebsiella* sont toujours résistantes à l'ampicilline), soit elles ont une résistance acquise.

- Résistance naturelle:

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance. La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis les antibiotiques.

Chez les entérobactéries, la plupart des espèces produisent naturellement des β -lactamases chromosomiques soit de classe A (*Klebsiella* spp, *Citrobacter koseri*, *Escherichia hermannii*...), soit de classe C (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*...), voire les deux types d'enzymes (*Yersinia enterocolitica*). L'expression phénotypique de ces enzymes peut-être constitutives ou inducible par les β -lactamines elles-mêmes.

On constate un phénotype de résistance de pénicillinase de bas niveau inclut les espèces possédant une pénicillinase chromosomique constitutive, exprimée à bas niveau chez *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Raoultella planticola*,

R. ornithinolytica, *R. terrigena*, *Escherichia hermannii*, *C. gillenii*, qui est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines.

Les espèces *E. coli* et *Shigella* possèdent un gène *ampC* codant pour une céphalosporinase de la classe C d'Ambler donc résistante aux inhibiteurs. Elle est exprimée de manière constitutive à très bas niveau, avec une sensibilité à toutes les β -lactamines testées ou une sensibilité intermédiaire aux céphalosporines de première génération et/ou aux aminopénicillines avec et sans inhibiteurs.

Des espèces d'entérobactéries, comme par exemple *Proteus vulgaris*, *P. penneri* possèdent une céfuroximase inductible. D'autres comme *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *E. asburiae*, *Serratia marcescens*, *C. freundii*, *C. braakii*, *C. youngae*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *P. stuartii*, *Hafnia alvei* et *Pantoea agglomerans* possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de première génération et à l'action de l'acide clavulanique.

- Résistance acquise:

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons. On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation.

Les plasmides et les transposons déterminent la résistance aux antibiotiques : de nombreuses β -lactamases dégradent les β -lactamines.

Une β -lactamase spécifique à une bactérie peut apparaître chez d'autres espèces par la suite, au vu de ces mécanismes de transfert relativement facile de matériel génétique.

Comme l'acquisition des nouvelles familles de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui ont été décrites plus récemment à différentes espèces

d'entérobactéries : CTX-M, OXA, SFO-1, GES-1... et sont distribuées de façon inégale dans le monde.

En 1988, une étude a permis d'isoler 267 espèces d'entérobactéries productrices de BLSE dérivées de TEM (CTX-1 ; TEM-3 et CAZ-6) ou SHV (CAZ-5). Les épidémies d'espèce et la dissémination plasmidique sont associées à CTX-1 et CAZ-5 pour les *Klebsiella pneumoniae*, et à la CAZ-6 pour les *Enterobacter aerogenes*. Cette étude a permis de suggérer que le Gènebla (CTX-1) a diffusé parmi les différents plasmides présents dans le même écosystème.

2.2.3.3 Mécanismes de résistance aux β -lactamines :

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemples : les sites de liaison des pénicillines, les penicillin binding proteins (PBP), ce qui empêche la fabrication de la paroi de la bactérie). Mais le plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les β -lactamines, les β -lactamases.

2.2.3.3.1 Diminution de la perméabilité :

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. Ainsi, la sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente.

Différents isolats cliniques d'*E. coli* caractérisés par une altération ou expression réduite de porines de type OmpC et/ou OmpF ont démontré une susceptibilité réduite aux β -lactamines.

Bien que plus rare, la disparition de porine provoque l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices de certaines β -lactamines comme cela a été mis en évidence chez certaines entérobactéries (*Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella Typhimurium* et *Escherichia coli*) et chez *P. aeruginosa*.

2.2.3.3.2 Hyperproduction de système d'efflux :

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif (Walsh. 2003). Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques.

L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae*. Cependant ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine et les C2G semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines.

2.2.3.3.3 Modification des PLP :

La résistance aux β -lactamines, conférée par les PLPs, chez les bactéries à Gram négatif joue un rôle mineur dans la résistance comparativement aux bactéries à Gram positif. Différents cas dont l'altération des PLP 1 et 2 chez *Neisseria gonorrhoeae* ont été décrits.

Cette résistance peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines.

Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème et au mécillinam ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1. Cependant, ce type de mécanisme reste très rare chez ce groupe bactérien.

2.2.3.3.4 Production de β -lactamases:

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines.

- Définition de β -lactamases :

Les β -lactamases ont été identifiées en 1940 par Abraham et Chain, qui ont mis en évidence une enzyme capable d'empêcher l'action de la pénicilline chez *E. coli* ; ils la nommèrent pénicillinase.

Les β -lactamases sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines en ouvrant le cycle bêtalactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif.

La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique, et est également un facteur de diffusion.

- Mode d'action:

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (figure n°5). Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalospoïque.

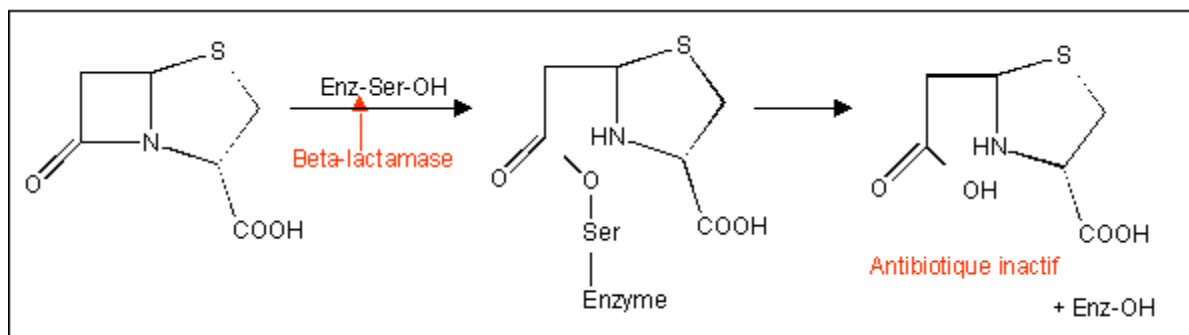


Figure 5: Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (15).

La différence majeure entre les β -lactamases et les PLP réside dans la vitesse à laquelle l'acylenzyme est hydrolysé. En effet, si les PLP ne sont capables d'hydrolyser qu'un cycle β -lactame par heure (l'acylenzyme apparaît dans ce cas comme un intermédiaire stable), les β -lactamases les plus efficaces peuvent en hydrolyser 1000 par seconde, rendant l'antibiotique totalement inactif et régénérant l'enzyme pour une nouvelle réaction d'hydrolyse (16).

2.3 Bêta-lactamases à spectre élargi (BLASE) :

2.3.1 Définition :

Les BLASE sont des enzymes qui inactivent les bêta-lactamines : aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération, monobactams (aztréonam). En revanche, elles n'inactivent pas les céphamycines (céfoxitine, céfotétan, etc.), le latamoxef et les carbapénèmes (imipénème).

Ces enzymes confèrent une résistance à une vaste gamme de bêta-lactamines. Il existe actuellement des bêta-lactamases à spectre élargi (BLASE) de **types TEM** et **SHV**. L'inactivation enzymatique (perte de l'activité antibiotique) survient lors de l'**ouverture** du **cycle bêta-lactame** (structure de base des bêta-lactamines retrouvée dans tous les sous-groupes). Les **premières BLASE** rapportées dans la littérature concernaient *Klebsiella pneumoniae*, mais progressivement d'autres espèces d'entérobactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter sp*) ont été à l'origine d'épidémies décrites en milieu hospitalier.

2.3.2 Les différents types de β -lactamases à spectre élargi :

Actuellement trois groupes de BLASE sont décrits : ce sont les TEM, les SHV et les CTX-M. Plus de 90 enzymes TEM sont identifiées : il y a des pénicillinases (TEM-1 et TEM-2), des BLASE pour la plupart (TEM-12, TEM-7, TEM-10, TEM-54 ...) et des TEM résistants aux inhibiteurs de β -lactamase (TEM-30, TEM-74). Les enzymes dérivant de SHV-1 sont moins nombreuses : il s'agit d'une vingtaine. Les CTX-M sont très nombreuses.

2.3.3 Facteurs de risque :

Il convient maintenant d'aborder la question des différents facteurs ayant participé à l'émergence des BLASE, ainsi qu'à leur dissémination. -Le premier facteur qu'on peut relever concerne l'utilisation accrue des céphalosporines de 3^{ème} génération quelques années avant l'apparition des premières BLASE, et par conséquent, la mise en évidence d'un lien de causalité entre cette utilisation et l'émergence des BLASE. En effet, les antibiotiques agissent à plusieurs niveaux : ils peuvent, par exemple, transformer la flore habituelle des patients, favoriser la colonisation par des bactéries résistantes ou encore sélectionner des souches résistantes et faciliter leur dissémination. En d'autre terme, les antibiotiques exercent une pression de sélection non négligeable, et cette pression de sélection est d'autant plus marquée que le nombre de patients traités est important et que la durée de l'antibiothérapie est longue. -Le deuxième facteur de risque concerne la dissémination des souches résistantes et englobe d'une part le problème des réservoirs et d'autre part le problème de la transmission des germes. Comme les autres entérobactéries, leur réservoir essentiel est digestif, leur transmission est manuportée. Lorsqu'on parle d'infections nosocomiales, on est tenu d'identifier les différents réservoirs potentiels de bactéries, à savoir les patients eux-mêmes, le personnel soignant, le matériel médical et l'environnement. Nous avons aussi le personnel soignant avec notamment la charge de soins élevés en milieu intensif et le risque accru de transmission de germes entre patients, par manuportage essentiellement. Enfin, il convient de prendre en considération le rôle de la circulation des patients. Cette circulation peut avoir lieu entre unités différentes d'un même hôpital, mais aussi entre hôpitaux, sur le plan national ou international, ce qui soulève le problème de l'importation de germes résistants et la nécessité de mesures de prévention.

2.3.4 Test de synergie BLASE :

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de BLASE. On les détecte in vitro en testant côte à côte deux disques, une C3G et l'association

amoxicilline + acide clavulanique sur la gélose de Mueller-Hinton. Après une nuit dans une étuve, le résultat est positif si on assiste à une augmentation de la zone d'inhibition autour du disque contenant la ceftazidime, en direction du disque porteur d'acide clavulanique. En d'autres termes, c'est l'augmentation de la zone d'inhibition obtenue pour une céphalosporine de 3^{ème} génération en présence d'acide clavulanique, par rapport à la zone d'inhibition d'une céphalosporine seule, qui indique la présence de BLASE. On obtient donc une image caractéristique de synergie d'action en <<**Bouchon de champagne**>> (7).



Figure 6: Bouchon de champagne (7)

MATÉRIEL ET MÉTHODES

III. METHODOLOGIE

3.1 Lieu de travail

L'étude a été effectuée au laboratoire de biologie médicale et d'hygiène hospitalière du Centre Hospitalier Universitaire du Point G.

3.2 Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude rétrospective, menée du 1^{er} janvier au 31 décembre 2016.

3.3 Souches étudiées

Les entérobactéries isolées de pus, de coproculture et d'hémoculture ont été les souches étudiées pendant la période d'étude.

3.4 Echantillonnage

3.4.1 Critères d'inclusion

Ont été inclus les résultats de l'antibiogramme de toutes les souches d'entérobactéries isolées de pus, de coproculture et d'hémoculture pour la première fois au laboratoire de biologie médicale et d'hygiène hospitalière du C.H.U du Point G quelle que soit la provenance.

3.4.2 Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus les résultats de l'antibiogramme des doublons, et ceux avant et après 2016.

3.4.3 Echantillonnage

L'échantillonnage a regroupé tous les résultats d'antibiogrammes des souches d'entérobactéries isolées de pus, de coproculture et d'hémoculture.

3.5 Collecte de données

3.5.1 Support de données :

Nous avons utilisé les résultats d'antibiogramme des souches d'entérobactéries isolées de pus, de coproculture et d'hémoculture.

3.5.1.1 Isolement des souches d'entérobactéries

Les échantillons ont été examinés au microscope optique après coloration de Gram à l'objectif 100, puisensemencés. Le milieu de culture utilisé pour l'isolement des souches d'entérobactéries a été la gélose de Drigalski.

Coloration de Gram

Les réactifs utilisés sont :

- le violet de gentiane,
- la solution iodo-iodurée (lugol),
- l'alcool à 90°,
- la solution de safranine,
- l'eau du robinet.

Le matériel utilisé :

- le microscope
- les lames porte-objet,
- les pipettes Pasteur stérile,
- l'huile de cèdre.

❖ Principe

La coloration de Gram est une technique qui permet de classer les bactéries selon la structure de leur paroi en bactéries à Gram positif et à Gram négatif. En effet lorsque les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane et ensuite soumises à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout le cytoplasme des bactéries. Cependant lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seule la paroi des bactéries à Gram négatif, du fait de sa structure particulière (glucido-lipido-protéique) se laisse traversée par l'alcool et entraîne ainsi la décoloration de celles-ci qui seront ultérieurement colorées par la safranine en rouge.

❖ Technique

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une goutte de l'échantillon pour faire un étalement mince sur une lame porte-objet.

Le frottis est fixé à la chaleur puis à l'alcool. Puis il est entièrement recouvert de violet de gentiane pendant 1 min. On rince ensuite à l'eau de robinet.

Le frottis est ensuite recouvert de lugol pendant 1 min, Puis on décolore à l'alcool (la décoloration est arrêtée au moment où l'alcool n'entraîne plus de colorant) on

lave rapidement à l'eau en vue d'arrêter l'action de l'alcool, le frottis est enfin recouvert de safranine pendant 20 secondes, puis lavé à l'eau et séché.

Ensuite le frottis est examiné au microscope optique à l'objectif 100 et à l'immersion à l'huile de cèdre.

Galerie classique

Le milieu Urea Indole permet la mise en évidence de l'uréase, du tryptophane désaminase et de la production d'indole (le milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries).

❖ Principe

Les bactéries possédant une urease transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacée du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition du réactif de Kovacs (code 55313) qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive. La présence de tryptophane désaminase (TDA) est mise en évidence par addition de perchlorure de fer qui provoque une coloration brune rouge du milieu en cas de réaction positive.

❖ Préparation du milieu :

Les réactifs fournis sont :

- Le milieu Urea Indole
- le réactif Kovacs
- le ferric chloride solution

Le matériel non fourni est :

- tubes à hémolyse

Distribuer 0.25 à 0.50 ml de milieu Urea Indole dans des tubes à hémolyse, chacun devant servir à l'étude de souches différentes et/ou à la réalisation de différents tests :

- ✓ Un premier tube peut, pour une souche donnée, être utilisé pour la mise en évidence de l'uréase et pour la production d'indole.

- ✓ Un second tube est, pour cette même souche, réservé à la recherche de la TDA.

Puis ajouter à chaque tube abondamment de colonies isolées à partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur un milieu de culture.

❖ Lecture

- ✓ Présence d'une uréase : le milieu vire au rouge violacé. En absence d'uréase, la coloration du milieu reste inchangée.
- ✓ Recherche de la production d'indole : après 24 heures d'incubation verser 4 à 5 gouttes de réactif Kovacs dans le tube de milieu Urea Indole ensemencé la présence d'indole est révélée par l'apparition d'une coloration rouge à la surface du milieu.
- ✓ Recherche de la TDA : après 24 heures d'incubation, verser dans le tube du milieu Urea Indole 1 à 2 gouttes de ferric chloride solution ; coloration brune rouge (TDA +), coloration jaune orangée (TDA -).

Galerie API 20^E

❖ Principe

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique.

❖ Préparation de la galerie

Réactifs et matériel nécessaires mais non fournis :

Réactifs :

- suspension medium, 5 ml
- Kits réactifs : réactif de Kovacs, NIT (nitrate) 1+ NIT 2, VP (Voges-Proskauer) 1+ VP 2, TDA (Tryptophane Désaminase).
- Huile de paraffine.

Matériel :

- Catalogue Analytique API 20 E
- Pipettes
- Portoir pour ampoules
- Equipement général de laboratoire de bactériologie.

Réactifs complémentaires :

- API OF Medium : test pour la détermination du métabolisme fermentatif ou oxydatif du glucose.
- API M Medium : test pour la détermination de la mobilité des bactéries aéro-anaérobies.

Mode opératoire

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API suspension medium (5 ml) [ou utiliser un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif].
- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser

la pointe de la pipette, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

Pour les tests CIT (Citrate Trisodium), VP et GEL (Gelatinase), remplir tube et cupule,

Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),

Pour les tests : ADH (Arginine Dihydrolase), LDC (Lysine Decarboxylase), ODC (Ornithine Décarboxylase), H₂S (Hydrogène sulfureux), URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber entre 35-37° C pendant 18-24 heures.

Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture
- Si 3 tests ou plus (test GLU +ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs
- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3

Réincuber la galerie 24h (+ou-2 h) de plus sans rajouter les réactifs.

Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs

Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires.

Identification

- Avec le tableau d'identification, comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau
- Avec le catalogue.

Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires.

3.5.2 Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries par la technique de diffusion en gélose

Nous avons utilisé la méthode des disques.

Cette méthode est basée sur le principe de l'existence de correspondance entre les valeurs critiques des CMI en mg/l et des mesures des diamètres des zones d'inhibition au moyen de courbes de correspondance.

- Techniques :

• Milieu de culture

C'est la gélose de Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm, quelles que soient les dimensions et la forme de la boîte de Pétri utilisée.

• Réalisation de l'inoculum bactérien

Il est impératif de travailler sur une souche pure. L'identification et l'antibiogramme sont réalisés à partir d'une même suspension originelle. La suspension bactérienne est obtenue en mettant une colonie bien isolée dans 10 ml d'eau distillée stérile suivie d'une agitation.

• Ensemencement par inondation

Quelques ml de l'inoculum (2 à 6 ml environ selon les dimensions de la boîte de Pétri) sont déversés de façon à recouvrir presque entièrement la surface gélosée. Des mouvements de rotation, dans les deux axes, imprimés par la main accélèrent le recouvrement.

Le surplus d'inoculum est versé dans un bocal et la boîte égouttée est mise à sécher pendant 15 min à l'étuve ou sur la paillasse pendant quelques minutes.

• Application des disques

Les disques d'antibiotiques en cartouches sont disponibles. Après 15 min de séchage, les disques choisis sont posés soit à la pince flambée, soit à l'aide d'un distributeur automatique périodiquement désinfecté. Les disques sont appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.

L'ensemble est porté à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37° C.

Après incubation on procède à la lecture des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée. Le diamètre des zones d'inhibition est interprété en sensible, intermédiaire ou résistant conformément aux recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

- **Les antibiotiques testés ont été**
 - Une aminopénicilline : l'amoxicilline 25 µg
 - Une carboxypénicilline : la ticarcilline 75 µg
 - L'association amoxicilline + acide clavulanique (20 µg +10 µg)
 - Une céphalosporine de première génération : la céfalotine 30µg
 - Une céphalosporine de deuxième génération : la céfoxitine 30 µg
 - Deux céphalosporines de troisième génération : le céfotaxime 30 µg et la ceftazidime 30µg.
 - Deux aminosides : la gentamicine 10 UI et l'amikacine 30 µg
 - Une quinolone de première génération : l'acide nalidixique 30 µg
 - Une fluoroquinolone : la norfloxacin 5 µg
 - Un phénicolé : le chloramphénicol 30 µg
 - Une tétracycline : la tétracycline 30 UI
 - Une polymyxine : la colistine 50 µg
 - Un sulfamide 200 µg
 - Le triméthoprime 5 µg

3.5.1.3 Technique de collecte

Elle a consisté à la lecture des fiches d'antibiogramme dont le questionnaire comporte la date de l'analyse, le numéro d'enregistrement du malade, le nom de la souche isolée, la nature du prélèvement et les antibiotiques testés.

3.5.2 Phénotypes de résistance aux β-lactamines

Les phénotypes ont été définis en fonction de l'étude de la sensibilité aux β-lactamines.

- **Phénotypes Sensibles** : Les souches sensibles aux β-lactamines testées ont été considérées comme sensibles.

- **Phénotypes Pénicillinases de bas niveau** : Les souches résistantes à l'amoxicilline et à la ticarcilline, mais sensibles aux autres molécules ont été considérées comme productrices de pénicillinases de bas niveau.
- **Phénotypes Pénicillinases de haut niveau** : Les souches résistantes à l'amoxicilline, la ticarcilline, la céfalotine et intermédiaires à l'association amoxicilline + acide clavulanique ont été considérées comme productrices de pénicillinases de haut niveau.
- **Phénotypes TRI** : Les souches résistantes à l'amoxicilline, la ticarcilline et à l'association amoxicilline + acide clavulanique ont été considérées comme productrices de TEM.
- **Phénotypes β -lactamases à spectre élargi (BLASE)** : Les souches résistantes à l'amoxicilline, la ticarcilline, la céfalotine, les céphalosporines de troisième génération, l'association amoxicilline + acide clavulanique mais sensibles à la céfoxitine ont été considérées comme productrices de BLASE.
- **Imperméabilité** : Les souches résistantes à la céfalotine et / ou intermédiaires à la céfoxitine mais sensibles aux autres molécules ont été considérées comme imperméables aux molécules considérées.
- **Phénotypes Céphalosporinase**: Les souches résistantes à l'amoxicilline, la céfalotine, la céfoxitine, intermédiaires ou résistantes au céfotaxime, à la ceftazidime et à l'association amoxicilline + acide clavulanique ont été considérées comme productrices de céphalosporinase.

3.6 Analyse des données

L'analyse et l'interprétation de nos résultats ont été faites à l'aide des logiciels Microsoft Excel 2013 et SPSS version 20.

Pour la comparaison de nos résultats, nous avons utilisé le test Khi carré (corrigé de Yates).

RÉSULTATS

IV. RESULTATS

4.1 Résultats globaux

Au total 174 souches d'entérobactéries ont été isolées de pus, de selles et de sang au CHU du Point G de janvier à décembre 2016.

4.2 Répartition des souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement

Une souche d'entérobactérie sur deux a été isolée de pus (tableau II).

Tableau II : Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement.

Prélèvement	Effectifs	Fréquence
Pus	84	48,3 %
Coproculture	75	43,1%
Hémoculture	15	8,6 %
Total	174	100 %

4.3 Origine des souches

Sur 174 souches d'entérobactéries, 55 (31,6 %) ont été d'origine hospitalière (tableau III).

Tableau III : Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'origine

Service	Effectifs	Fréquence
Médecine interne	14	8,0 %
Chirurgie A	13	7,5 %
Réanimation	8	4,6 %
Maladies infectieuses	7	4,0 %
Chirurgie B	5	2,9 %
Urologie	3	1,7 %
Néphrologie	1	0,6 %
Rhumatologie	1	0,6 %
Cardiologie	1	0,6 %
Gynécologie	1	0,6 %
Urgences	1	0,6 %
Non précisés	8	4,6 %
Externes	111	63,8 %
Total	174	100

4.4 Distribution des souches en fonction de l'origine et du prélèvement (tableau IV)

Les souches d'entérobactéries ont été isolées de pus et de coproculture essentiellement.

Sur 55 souches hospitalières, 24 (44 %) provenaient des services de médecine.

Tableau IV: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du service et du prélèvement.

Service	Hémoculture	Pus	Coproculture	total
Médecine interne	4	8(9,5 %)	2	14
Chirurgie A	0	13(15,5 %)	0	13
Réanimation	6	1	1	8
Maladies infectieuses	1	0	6(8 %)	7
Chirurgie B	0	5(6 %)	0	5
Urologie	0	3 (3,6 %)	0	3
Néphrologie	0	0	1	1
Rhumatologie	0	0	1	1
Cardiologie	0	1	0	1
Gynécologie	0	1	0	1
Urgences	0	0	1	1
Non précisés	1	3	4	8
Externes	3	49(58,3 %)	59(78,7 %)	111
Total	15	84(100 %)	75(100 %)	174

4.5 Les différentes espèces d'entérobactéries isolées

Escherichia coli (81%) a été l'espèce la plus isolée suivie par *Klebsiella pneumoniae* avec 7,5% (tableau V).

Tableau V: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce.

Espèces	Effectifs	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	141	81,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	7,5
<i>Enterobacter sp</i>	6	3,4
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	2,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1,7
<i>Salmonella enterica</i>	2	1,1
<i>Proteus sp</i>	2	1,1
<i>Morganella morganii</i>	1	0,6
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,6
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	0,6
Total	174	100,0

4.6 Répartition des souches en fonction des services et de l'espèce :

Escherichia coli a été la bactérie la plus isolée en milieu hospitalier comme en milieu communautaire (tableau VI).

Tableau VI : Répartition des souches en fonction de l'origine et de l'espèce.

Service	E. coli	K. pneumoniae	E. cloacae	K. oxytoca	Enterobacter sp	autres	total
MI	8	3	0	0	0	3	14
Urologie	2	1	0	0	0	0	3
Néphrologie	1	0	0	0	0	0	1
Rhumatologie	1	0	0	0	0	0	1
Cardiologie	1	0	0	0	0	0	1
Gynécologie	1	0	0	0	0	0	1
Urgences	1	0	0	0	0	0	1
MIT	5	1	0	0	1	0	7
Chirurgie B	4	0	0	0	0	1	5
Réanimation	4	1	1	1	1	0	8
Non précisés	7	0	1	0	0	0	8
Externes	97	6	1	1	4	2	111
Chirurgie A	9	1	0	2	0	1	13
Total	141	13	3	4	6	7	174

MI : Médecine interne ; MIT : Maladies infectieuses tropicales

4.7 Distribution des souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement et de l'espèce

Escherichia coli a été la bactérie la plus fréquemment isolée dans les trois prélèvements. Les différentes espèces d'entérobactéries sont isolées pour la plupart des pus (tableau VII).

Tableau VII: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction du prélèvement et de l'espèce

Espèces	Hémoculture	Pus	Coproculture	Total
<i>Escherichia coli</i>	6	61 (72,6 %)	74 (98,7 %)	141
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	10 (11,9 %)	1 (1,3 %)	13
<i>Enterobacter sp</i>	3	3 (3,6 %)	0	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	2 (2,4 %)	0	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2 (2,4 %)	0	3
<i>Salmonella enterica</i>	1	1 (1,2 %)	0	2
<i>Proteus sp</i>	0	2 (2,4 %)	0	2
<i>Morganella morganii</i>	0	1 (1,2 %)	0	1
<i>Proteus mirabilis</i>	0	1 (1,2 %)	0	1
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	0	1 (1,2 %)	0	1
Total	15	84 (100 %)	75 (100 %)	174

4.8 Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries

Les molécules les plus actives ont été l'imipénème, l'amikacine, la colistine, la céfoxitine et le chloramphénicol (tableau VIII).

Tableau VIII : Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries.

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	17 (9,9 %)	5 (2,9 %)	150 (87,2 %)	172 (100 %)
Amoxicilline + a. clavulanique	32 (19,6 %)	83 (51 %)	48 (29,4 %)	163 (100 %)
Ticarcilline	23 (13,4 %)	2 (1,1 %)	147 (85,5 %)	172 (100 %)
Céfalo0taxime	45 (26 %)	7 (4 %)	121 (70 %)	173 (100 %)
Céfo0taxime	65 (38 %)	8 (5 %)	97 (57 %)	170 (100 %)
Ceftazidime	54 (39,7 %)	39 (28,7 %)	43 (31,6 %)	136 (100 %)
Céfoxitine	126 (75,9 %)	10 (6 %)	30 (18,1 %)	166 (100 %)
Imipénème	70 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	70 (100 %)
Gentamicine	99 (62,7 %)	1 (0,6 %)	58 (36,7 %)	158 (100 %)
Amikacine	150 (95,5 %)	4 (2,5 %)	3 (2 %)	157 (100 %)
Acide nalidixique	53 (31,9 %)	9 (5,4 %)	104 (62,7 %)	166 (100 %)
Norfloxacine	64 (37,9 %)	16 (9,4 %)	89 (52,7 %)	169 (100 %)
Chloramphénicol	116 (75,3 %)	3 (2 %)	35 (22,7 %)	154 (100 %)
Tétracycline	16 (11,4 %)	1 (0,6 %)	123 (88 %)	140 (100 %)
Sulfamides	15 (12,2 %)	3 (2,4 %)	105 (85,4 %)	123 (100 %)
Triméthoprim	17 (13,4 %)	0 (0 %)	110 (86,6 %)	127 (100 %)
Colistine	154 (96 %)	0 (0 %)	6 (4 %)	160 (100 %)

4.8.1 Phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les β -lactamases à spectre élargi et les pénicillinases ont été les principaux phénotypes de résistance (tableau IX).

Tableau IX: Répartition des souches d'entérobactéries selon les phénotypes de résistance

Phénotypes	Effectifs	Pourcentage
β -lactamase à spectre élargi	98	56,3
Pénicillinase de haut niveau	29	16,6
Pénicillinase de bas niveau	17	9,8
Sensible	17	9,8
Céphalosporinase hyperproduite	8	4,6
Céphalosporinase inductible	4	2,3
TRI	1	0,6
Total	174	100,0

4.8.2 Répartition des souches en fonction de l'espèce et du phénotype de résistance aux β -lactamines

Escherichia coli et *Klebsiella pneumoniae* ont été les principales entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (tableau X).

Tableau X: Répartition de 174 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et du phénotype

	sensible	BLASE	PHN	PBN	CPH	CI	TRI	total
<i>E. coli</i>	15 (10,6 %)	78 (55,3 %)	25 (17,7 %)	14 (10 %)	7 (5 %)	1 (0,7 %)	1 (0,7 %)	141 (100 %)
<i>K. pneumoniae</i>	0	7	3	3	0	0	0	13
<i>K. oxytoca</i>	0	4	0	0	0	0	0	4
<i>E. cloacae</i>	0	3	0	0	0	0	0	3
<i>Enterobacter sp</i>	0	4	0	0	0	2	0	6
<i>S. enterica</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>Proteus sp</i>	0	1	0	0	0	1	0	2
<i>P. mirabilis</i>	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>M. morganii</i>	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>R. ornithinolytica</i>	0	1	0	0	0	0	0	1
Total	17	98	29	17	8	4	1	174

4.8.3 Prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi en fonction de l'origine

La prévalence des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi a été plus élevée en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire : la différence est significative (tableau XI).

Tableau XI : Distribution de 174 souches d'entérobactéries en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine

Origine	Souches productrices de BLASE	Souches non productrices de BLASE	Total
Hospitalière	38 (69,1%)	17 (30,9%)	55 (100%)
Communautaire	55 (49,5%)	56 (50,5%)	111 (100%)
Non précisée	5	3	8
Total	98 (56,3%)	76 (43,7%)	174 (100%)

$$\chi^2 = 4,935 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,026$$

Tableau XII: Distribution de 84 souches d'entérobactéries isolées de pus en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine

Origine	Souches productrices de BLASE	Souches non productrices de BLASE	Total
Hospitalière	23 (72 %)	9 (28 %)	32 (100 %)
Communautaire	25 (51 %)	24 (49 %)	49 (100 %)
Non précisée	3	0	3
Total	51 (61 %)	33 (39 %)	84 (100 %)

$$\chi^2 = 3,4 ; \text{d.d.l.} = 1 ; P = 0,062$$

Tableau XIII: Distribution de 75 souches d'entérobactérie isolées de coproculture en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.

Origine	Souches productrices de BLASE	Souches non productrices de BLASE	Total
Hospitalière	9 (75 %)	3 (25 %)	12 (100 %)
Communautaire	28 (47 %)	31 (53 %)	59 (100 %)
Non précisée	1	3	4
Total	38 (51 %)	37 (49 %)	75 (100 %)

$\chi^2 = 3,03$; d.d.l. = 1 ; P = 0,08

Tableau XIV: Distribution de 134 souches d'*Escherichia coli* en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.

Origine	Souches productrices de BLASE	Souches non productrices de BLASE	Total
Hospitalière	26 (70 %)	11 (30 %)	37 (100 %)
Communautaire	48 (49 %)	49 (51 %)	97 (100 %)
Total	74 (55 %)	60 (45 %)	134 (100 %)

$\chi^2 = 3,87$; d.d.l. = 1 ; P = 0,04

Les souches d'*Escherichia coli* productrices de BLASE ont été plus fréquentes en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire : la différence est significative.

Tableau XV: Prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et de l'origine.

Origine	Souches productrices de BLASE	Souches Non productrice de BLASE	Total
Hospitalière	6	6	12
Communautaire	1	0	1
Total	7	6	13

$\chi^2 = 0,9286$; d.d.l = 1 ; P = 0.335

4.8.4 Prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi en fonction du prélèvement

La prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi a été indépendante du prélèvement (tableau XVI).

Tableau XVI : Distribution de 174 souches d'entérobactéries en fonction de la production de β -lactamases à spectre élargi et du prélèvement.

Prélèvement	Souches productrices de BLASE	Souches non productrices de BLASE	Total
Hémoculture	9 (60 %)	6 (40 %)	15 (100 %)
Pus	51 (61 %)	33 (39 %)	84 (100 %)
Coproculture	38 (51 %)	37 (49 %)	75 (100 %)
Total	98 (56,3 %)	76 (43,7 %)	174 (100 %)

$\chi^2 = 1,714$; d.d.l. = 1 ; P = 0,19

4.8.5 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries selon le phénotype de résistance aux β -lactamines.

4.8.5.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (tableaux XVII, XVIII, XIX, XX)

L'imipénème, l'amikacine, la colistine et le chloramphénicol ont été les antibiotiques les plus actifs.

Tableau XVII: Sensibilité aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi

Bêta-lactamines	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0 (0 %)	0 (0 %)	98 (100 %)	98 (100 %)
Amoxicilline + A .clavulanique	0 (0 %)	58 (59 %)	40 (41 %)	98 (100 %)
Ticarcilline	0 (0 %)	0 (0 %)	98 (100 %)	98 (100 %)
Céfalotine	0 (0 %)	0 (0 %)	98 (100 %)	98 (100 %)
Céfotaxime	0 (0 %)	12 (12 %)	86 (88 %)	98 (100 %)
Ceftazidime	0 (0 %)	12 (12 %)	86 (88 %)	98 (100 %)
Céfoxitine	66 (67 %)	9 (9 %)	23 (24 %)	98 (100 %)
Imipénème	45 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	45 (100 %)

Tableau XVIII: Sensibilité aux aminosides de 96 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi

Aminosides	sensible	intermédiaire	résistant	total
Gentamicine	46 (48 %)	1 (1 %)	49 (51 %)	96 (100 %)
Amikacine	88 (94 %)	3 (3 %)	3 (3 %)	94 (100 %)

Tableau XIX: Sensibilité aux quinolones de 96 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi

Quinolones	sensible	intermédiaire	résistant	total
Acide nalidixique	17 (18 %)	6 (6 %)	73 (76 %)	96 (100 %)
Ciprofloxacine	16 (17 %)	11 (11,5 %)	68 (71,5 %)	95 (100 %)

Tableau XX: Sensibilité aux autres antibiotiques de 95 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi

Autres antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Chloramphénicol	73 (77 %)	2 (2 %)	20 (21 %)	95 (100 %)
Tétracycline	6 (7 %)	1 (1 %)	82 (92 %)	89 (100 %)
Colistine	88 (98 %)	0 (0 %)	2 (2 %)	90 (100 %)
Sulfamides	6 (8 %)	2 (2 %)	70 (90 %)	78 (100 %)
Triméthoprim	6 (8 %)	0 (0 %)	72 (92 %)	78 (100 %)

4.8.6 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de bas niveau (PBN)

La tétracycline, les sulfamides, le triméthoprime ont été les antibiotiques les moins actifs sur les souches d'entérobactéries productrices de PBN (tableau XXI).

Tableau XXI: Sensibilité aux antibiotiques de 17 souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de bas niveau (PBN)

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0	3	14	17
Amoxicilline + A.clavulanique	14	2	0	16
Ticarcilline	0	4	13	17
Céfalotine	17	0	0	17
Céfotaxime	17	0	0	17
Ceftazidime	17	0	0	17
Céfoxitine	17	0	0	17
Imipénème	2	0	0	2
Gentamicine	15	0	1	16
Amikacine	15	0	0	15
A.nalidixique	8	0	6	14
Ciprofloxacine	15	0	2	17
Chloramphénicol	11	0	3	14
Tétracycline	3	0	10	13
Colistine	16	0	0	16
Sulfamides	3	0	10	13
Triméthoprime	3	0	11	14

A : acide

4.8.7 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de haut niveau (PHN)

Les antibiotiques les plus actifs ont été la céfoxitine, le céfotaxime et la ceftazidime (tableau XXII).

Tableau XXII: Sensibilité aux antibiotiques de 29 souches d'entérobactéries productrices de pénicillinase de haut niveau (PHN)

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0(0 %)	1(3 %)	28(97 %)	29(100 %)
Amoxicilline + a. clavulanique	0(0 %)	21(84 %)	4(16 %)	25(100 %)
Ticarcilline	0(0 %)	1(4 %)	26(96 %)	27(100 %)
Céfalotine	11(38 %)	6(21 %)	12(41 %)	29(100 %)
Cefotaxime	24(83 %)	0(0 %)	5(17 %)	29(100 %)
Ceftazidime	19(90 %)	2(10 %)	0(0 %)	21(100 %)
Céfoxitine	25(100 %)	0(0 %)	0(0 %)	25(100 %)
Imipenème	11	0	0	11
Gentamicine	19 (86 %)	0(0 %)	3(14 %)	22(100 %)
Amikacine	24(96 %)	1(4 %)	0(0 %)	25 (100 %)
Acide nalidixique	14(48,3 %)	3(10,3 %)	12(41,4 %)	29(100 %)
Ciprofloxacine	17(59 %)	5 (17 %)	7(24 %)	29(100 %)
Chloramphénicol	15(65 %)	0(0 %)	8(35 %)	23(100 %)
Tétracycline	3(14 %)	0(0 %)	19(86 %)	22(100 %)
Sulfamides	4	0	14	18
Triméthoprime	4	0	15	19
Colistine	25 (96 %)	0(0 %)	0 (4 %)	25(100 %)

4.8.8 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de bas niveau (CBN).

Les antibiotiques les plus actifs ont été l'imipénème, l'amikacine, la colistine et le chloramphénicol (tableau XXIII).

Tableau XXIII: Sensibilité aux antibiotiques de 8 souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de bas niveau (CBN).

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0	0	8	8
Amoxicilline + a. clavulanique	1	1	4	6
Ticarcilline	0	0	8	8
Céfaloine	0	0	8	8
Céfotaxime	1	1	6	8
Ceftazidime	0	2	4	6
Céfoxitine	2	0	4	6
Imipénème	7	0	0	7
Gentamicine	1	0	4	5
Amikacine	7	0	0	7
Acide nalidixique	0	0	7	7
Ciprofloxacine	0	0	6	6
Chloramphénicol	3	1	1	5
Tétracycline	0	0	4	4
Sulfamides	0	0	2	2
Triméthoprime	0	0	2	2
Colistine	5	0	2	7

4.8.9 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de haut niveau (CHN).

Les antibiotiques les plus actifs ont été la gentamicine, l'amikacine, la colistine (tableau XXIV).

Tableau XXIV: Sensibilité aux antibiotiques de 4 souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase de haut niveau (CHN).

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0	0	4	4
Amoxicilline + acide clavulanique	0	0	4	4
Ticarcilline	0	0	4	4
Céfaloine	0	0	4	4
Céfotaxime	0	0	4	4
Ceftazidime	0	0	4	4
Céfoxitine	0	0	4	4
Imipénème	1	0	0	1
Gentamicine	4	0	0	4
Amikacine	3	0	0	3
Acide nalidixique	2	0	2	4
Ciprofloxacine	2	0	2	4
Chloramphénicol	1	0	3	4
Tétracycline	0	0	2	2
Sulfamides	0	0	2	2
Triméthoprime	0	0	3	3
Colistine	3	0	1	4

4.8.10 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries phénotype sensible aux β -lactamines (tableau XXV)

Les sulfamides, le triméthoprim, la tétracycline ont été les molécules les moins actives sur les souches d'entérobactéries sensibles aux β -lactamines (tableau XXV).

Tableau XXV: Sensibilité aux antibiotiques de 17 souches d'entérobactéries du phénotype sensible aux β -lactamines.

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	17	0	0	17
Amoxicilline + acide clavulanique	17	0	0	17
Ticarcilline	17	0	0	17
Céfalotine	17	0	0	17
Céfotaxime	17	0	0	17
Ceftazidime	17	0	0	17
Céfoxitine	17	0	0	17
Imipénème	4	0	0	4
Gentamicine	13	0	1	14
Amikacine	12	0	0	12
Acide nalidixique	11	0	4	15
Ciprofloxacine	13	0	4	17
Chloramphénicol	12	0	0	12
Tétracycline	4	0	6	10
Sulfamides	1	1	7	9
Triméthoprim	3	0	7	10
Colistine	17	0	0	17

4.8.11 Sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre élargi.

Les antibiotiques les plus actifs ont été l'imipénème, la colistine, la gentamicine, l'amikacine, le chloramphénicol, la céfoxitine (tableau XXVI).

Tableau XXVI: Sensibilité aux antibiotiques de 77 souches d'*Escherichia coli* productrices de BLASE.

Antibiotiques	sensible	intermédiaire	résistant	total
Amoxicilline	0(0 %)	0(0 %)	77(100 %)	77 (100 %)
Amoxicilline+a.clavulanique	0(0 %)	46(60 %)	31 (40 %)	77(100 %)
Ticarcilline	0(0 %)	0(0 %)	77 (100 %)	77 (100 %)
Céfalotine	0(0 %)	0(0 %)	77(100 %)	77(100 %)
Céfotaxime	0 (0 %)	9(12 %)	68 (88 %)	77 (100 %)
Ceftazidime	0	9(12 %)	68 (88 %)	77 (100 %)
Céfoxitine	55 (71,4 %)	8(10,4 %)	14(18,2 %)	77 (100 %)
Imipénème	39(100 %)	0(0 %)	0(0 %)	39(100 %)
Gentamicine	41(98 %)	0(0 %)	1 (2 %)	42 (100 %)
Amikacine	74 (96 %)	0(0 %)	3(4 %)	77 (100 %)
A.nalidixique	12(15,6 %)	4(5,2 %)	61(79,2 %)	77(100 %)
Ciprofloxacine	11(14,5 %)	8(10,5 %)	57(75 %)	76(100 %)
Chloramphénicol	59(78,7 %)	2(2,6 %)	14(18,7 %)	75 (100 %)
Tétracycline	5(7 %)	1(1,4 %)	65(91,5 %)	71(100 %)
Sulfamides	4(6,7 %)	2(3,3 %)	54(90 %)	60(100 %)
Triméthoprime	6(10 %)	0(0 %)	53(90 %)	59(100 %)
Colistine	71 (98,6 %)	0(0 %)	1(1,4 %)	72(100 %)

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

V. COMMENTAIRE ET DISCUSSION

5.1 Méthodologie

Différentes espèces d'entérobactéries ont été isolées : *Escherichia coli* a été l'espèce la plus fréquente (17-20).

L'identification de nos souches d'entérobactéries a été faite sur la base de leurs caractères morphologiques et biochimiques (29 - 32).

L'étude de la sensibilité a été faite par la méthode de diffusion d'antibiotiques sur gélose de Mueller-Hinton (33, 34).

L'individualisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines a été faite en fonction du comportement des différentes espèces d'entérobactéries à l'amoxicilline, l'association amoxicilline + acide clavulanique, la ticarcilline, la céfalotine, au céfotaxime, la ceftazidime et la céfoxitine (34).

L'identification des β -lactamases à spectre élargi (BLASE) a reposé sur la positivité du test de synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération : le céfotaxime et la céftazidime (21).

5.2 Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines

5.2.1 Prévalence des phénotypes

La résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries est marquée par la production de BLASE (56,3%), de pénicillinases de haut niveau (16,6%), de pénicillinases de bas niveau (9,8%), de céphalosporinases hyperproduites (4,6%), de céphalosporinases inductibles (2,3%), de TRI (0,6% (tableau XI). **SAYE** a observé une résistance marquée par la production de β -lactamases à spectre élargi (29 %), de pénicillinases de bas niveau (25,4 %), et de pénicillinases de haut niveau (19,1%) en 2008 au CHU du Point G (34). **DIOMAN** a rapporté un taux de BLASE à 20,3% en 2004 ; 21,3% en 2005 et 26,8% en 2006 (2).

Ce taux de production de BLASE est largement supérieur à ceux rapportés à Marrakech (Maroc) en 2015 (13%) et en France en 2012 avec 13,6% (36, 37) ainsi qu'en Allemagne et au Pays-Bas avec des taux respectifs de 2,6% et 2% (38). Il est également supérieur à ceux rapportés en Algérie (37,1%), en Tunisie (30,8%)

et à Rabat (18,53%) (**39 - 41**). L'apparition des BLASE chez les souches d'entérobactéries est en rapport avec l'augmentation importante de l'utilisation des C3G et avec le déterminisme plasmidique des BLASE leur conférant une transmission d'espèce à espèce (**42, 43**).

Dans notre étude, *E. coli* a été la souche d'entérobactérie la plus productrice de BLASE avec 55,3%. **SAYE** a trouvé que les espèces *K. pneumoniae* et *E. coli* prédominent parmi les souches d'entérobactéries productrices de BLASE avec respectivement 43,4% et 32,3% de 2006 à 2008 tout comme **DIOMAN** qui a rapporté une prédominance des espèces *K. pneumoniae* et *E. coli* avec des taux de 39 % et 23% respectivement (**2, 34**).

Une étude menée en Algérie en 2015, a objectivé une prédominance d'*Escherichia coli* avec 43% des BLASE, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (30%) (**44**) qui diffère de celle d'**AJDAKAR** en 2015 qui a rapporté que *Klebsiella pneumoniae* est l'entérobactérie sécrétrice de BLASE la plus fréquente, constituant 41% des entérobactéries sécrétrices de BLASE, suivie d'*Escherichia coli* avec 39% (**36**).

L'étude a montré que *E coli* a été l'entérobactérie le plus isolé. Ce fort taux d'isolement de *E coli* peut s'expliquer par la forte prescription des C3G dans les hôpitaux et aussi par le manque de maîtrise de la consommation (automédication, rupture de traitement...). **BELMONTE** et *al* avait fait le même constat (**45**). La résistance des *Klebsiella* est aussi traduite par leur production naturelle de pénicillinase, ce qui leur permet de résister aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines (**33, 46**).

5.2.2 Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

On est frappé par une augmentation incessante de la prévalence des entérobactéries productrices de BLASE au CHU du Point G. Les souches communautaires ne sont pas épargnées. Nous avons trouvé un taux de prévalence

globale des entérobactéries productrices de BLASE à 56,3 % c'est-à-dire une souche sur deux : avec 69,1 % chez les hospitalisés du Point G et 49,5 % chez les consultants externes. En milieu hospitalier la fréquence de production de BLASE a été de 70 % chez *E. coli*. En milieu extrahospitalier nous avons une fréquence de 49 % chez *E. coli*. La prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi a été indépendante du prélèvement avec 61% sur du pus, 60% sur l'hémoculture et 51% sur la coproculture.

SAYE en 2012 a observé une prévalence des entérobactéries productrices de BLASE à 29,9% en milieu hospitalier contre 13,5% en milieu communautaire et ce quelle que soit la nature du prélèvement (34). **DIOMAN** a rapporté un taux de prévalence globale des entérobactéries productrices de BLASE de 23,5 % : avec 26,4 % chez les hospitalisés du Point G et 16,2 % chez les consultants externes (2).

Une épidémie d'entérobactéries productrices de BLASE n'est jamais survenue au CHU au Point G par contre au CHU Gabriel Touré, une épidémie à *Enterobacter cloacae* producteur de BLASE est survenue au service de pédiatrie (47).

Des épidémies à entérobactéries productrices de BLASE ont été décrites en France : hôpital Henri Mondor, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, hôpital général de Perpignan, centre hospitalier régional de Clermont-Ferrand, CHU de Nancy-Brabois, hôpital général de Compiègne, hôpital Saint-Louis (48).

5.3 Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries

Nos souches sont sensibles à l'imipénème (100%), la colistine (96%), l'amikacine (95,5%), la céfoxitine (75,9%) et le chloramphénicol (75,3%) (Tableau VIII). **DIOMAN** a fait un constat assez similaire avec une sensibilité de 90% à la colistine, 90,3% à l'amikacine et 72,5% à la céfoxitine au CHU du Point G en 2009 (2).

Les entérobactéries productrices de BLASE sont par ailleurs connues pour leurs résistances croisées aux autres classes d'antibiotiques, ce qui limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière de traitement

(49). Le niveau élevé de ces résistances croisées observé dans notre étude, concorde avec des études antérieures impliquant le transfert de plasmides entre les espèces bactériennes par acquisition de matériel génétique responsable de la résistance aux antibiotiques (50). L'incidence de la résistance des aminosides associée aux BLASE a augmenté considérablement chez les souches productrices de BLASE (51). Dans notre étude, la résistance des souches BLASE à la gentamicine est de 51% tandis qu'on observe une large sensibilité à l'amikacine (94%). L'Amikacine reste l'aminoside le plus efficace, comme cela a été rapporté par **WU et al.** (52). Nos taux de résistance restent faibles par comparaison à ceux rapportés à Rabat en 2013 pour la gentamicine (75%) tandis que la résistance à l'amikacine est moindre (16%) (43). Le même constat a été fait en Suisse en 2014, avec 87% de résistance à la gentamicine, mais diffère pour l'amikacine avec 81% de résistance (53). **ARPIN et al.** ont mentionné un taux moins important de résistance à la gentamicine (29%), mais un taux de résistance plus important à l'amikacine (51%) (54). Une étude menée au Bénin au début de 2015, a rapporté des taux de résistance plus importants à la gentamicine (82%) et à l'amikacine (72%) (55). Il apparaît, dans nos résultats comme dans d'autres études, que l'amikacine est moins touchée que la gentamicine mais le taux de résistance à cette molécule ne cesse d'augmenter en raison de sa large prescription (56 - 58). Le triméthoprim et les sulfamides ont une activité faible sur les entérobactéries productrices de BLASE, avec 8% de sensibilité chacun, ce taux se rapproche des données de la littérature (22). En effet, à Marrakech un taux de sensibilité de 22% a été observé en 2015 (36). Une étude récente au Bénin a rapporté un taux de résistance de 100% (55).

Le taux de résistance à la ciprofloxacine rapporté dans notre étude est de 71,5%. Ce taux est proche de celui rapporté à Marrakech avec 80% (36). Ce taux atteint 100% dans une étude menée en 2015 au Bénin (55). La grande majorité des *Enterobacteriaceae*, y compris les productrices de BLASE restent sensibles aux carbapénèmes, et ces agents sont considérés comme un traitement empirique

préférentiel pour les infections graves à *Enterobacteriaceae* (25). La résistance aux carbapénèmes bien que rare, semble augmenter (50). En effet dans notre étude, on a constaté un taux de sensibilité à 100% mais une étude béninoise rapporte une résistance de 3,4% à l'imipénème. Tout de même, les molécules comme la céfoxitine, la colistine et le chloramphénicol restent actives sur nos souches avec des taux de sensibilité respectifs à 67%, 98% et 77%.

Nos souches d'*Escherichia coli* ont été en général sensibles à l'imipénème (100%), la colistine (98,6%), la gentamicine (98%), l'amikacine (96%), au chloramphénicol (78,7%), la céfoxitine (71,4%) [Tableau XXVI]. En 2002, **BATHILY-DIARRA** a rapporté pour *Escherichia coli* une large sensibilité à la céfalotine, au céfotaxime, à la ceftazidime, l'imipénème, à la gentamicine, à l'amikacine, à l'acide nalidixique, à la péfloxacinine et à la colistine (59). En 2005, **NIANDOU** a rapporté que les antibiotiques les plus actifs sur *Escherichia coli* ont été le céfotaxime, la ceftazidime, la céfoxitine, l'amikacine, et la colistine (33). Par comparaison aux souches de **NIANDOU**, nous constatons une diminution de la sensibilité de nos souches aux antibiotiques à l'exception de la céfoxitine et de l'amikacine.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

VI. CONCLUSION

En une année (2016), au laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière du point G, 174 souches d'entérobactéries ont été isolées.

Escherichia coli a été l'espèce la plus isolée.

L'imipénème, la colistine, l'amikacine, la céfoxitine et le chloramphénicol ont été les antibiotiques actifs sur les souches d'entérobactéries. Les antibiotiques les plus actifs sur *E. coli* ont été l'imipénème, l'amikacine et la colistine.

La gentamicine et les fluoroquinolones ont eu une faible activité sur nos souches d'entérobactéries.

Les souches extrahospitalières ont été plus sensibles que les souches hospitalières et la prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu est plus fréquente chez les souches hospitalières que chez les souches extrahospitalières. *Escherichia* a été la principale espèce productrice de BLASE. Malgré une haute prévalence des entérobactéries productrices de BLASE, aucune épidémie n'est survenue au CHU du Point G.

VII. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes

Aux prescripteurs

- Adapter l'antibiothérapie à un antibiogramme dans la mesure du possible
- Eviter la prescription systématique des céphalosporines de troisième génération et des fluoroquinolones qui favorisent la sélection de bactéries multirésistantes ;
- Décontaminer les malades hébergeant les bactéries multirésistantes.
- Isoler dans la mesure du possible les patients porteurs de bactéries multirésistantes.

A la Direction générale du CHU du Point G

- Approvisionner régulièrement le laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière en réactifs et consommables ;
- Mettre en place un comité local de lutte contre les infections nosocomiales.

Au Ministère de la Santé et des Affaires Sociales

- Lutter contre la vente illicite des médicaments ;
- Mettre en place un comité national de lutte contre les infections nosocomiales.
- Rendre l'antibiogramme réalisable à Bamako et dans les régions.

VIII. Références

- 1- Touati A, Benallaoua S, Kecha M et Idres N. Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries isolées, en milieu hospitalier : cas de l'hôpital d'Amizouk (W. Bejaia). Science Technol. 2003 ; 19 : 92-7.
- 2- Dioman A. Epidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au centre hospitalier universitaire du Point G [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2009.
- 3- Plan d'action pour combattre la résistance aux antimicrobiens, 2015. Disponible sur : http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_20-fr.pdf?ua=1
- 4- Pitout, Johann DD, Nordmann, Patrice, Laupland, Kevin B., et al. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. J Antimicrob Chemother. 2005, vol. 56, n°1, p. 52-59
- 5- El Bouamri ,M.C, Arsalane L, Kamouni Y.,et al. Recent evolution of the epidemiological profile of extended-spectrum b-lactamase producing uropathogenic enterobacteria in Marrakech, Morocco. Progress en Urologie: Journal de l'association Française D'urologie et de la Société Française D'urologie, 2014, vol.24, no 7, p. 451-455.
- 6- Fauchère JL, Avril JL. Bactériologie générale et médicale. Paris : Ellipses ; 2002.
- 7- Dicko OA. Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU du Point G [mémoire]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2009.
- 8- Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique. Paris : Ellipses, 2000.

- 9- Freney J, Renaud F, Leclercq R. précis de bactériologie clinique. Ed. Eska, 2007.
- 10- Ferech M, Coenen S, Malhotrakumar S *et al.* European surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58 :401-7.
- 11- Fisher JF, Meroueh SO and Mobashery S. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev.* 2005 ; 105: 395-402.
- 12- Ghuysen JM. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Ann Rev Microbiol.* 1991 ; 45: 37-67.
- 13- Stratton CW. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Leb Med J.* 2000 ; 48:186-98.
- 14- Bryskier A. Evolution de la chimiothérapie antibactérienne. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Paris : Ellipses, 1999.
- 15- Charlier P, Coyette J, Dehareng D, Dive G, Duez C, Dusart J *et al.* Résistance bactérienne aux β -lactamines. Synthèse. *médecine/sciences.* 1998 ; 14 : 544-55.
- 16- Benmesmoudi L. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLASE) isolées de l'hôpital de Laghouat [thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd, 2015.
- 17- Liu D. Diarrhoeagenic *Escherichia coli*. In : Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton Y and Schwartzman J, editors. *Molecular medical microbiology*, Volume 2. Boston : Elsevier, 2015 ; 1133-46.
- 18- Octavia S and Lan R. *Shigella* and shigellosis : genetics, epidemiology and pathogenesis. In : Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton Y and Schwartzman J, editors. *Molecular medical microbiology*, Volume 2. Boston : Elsevier, 2015 ; 1147-68.
- 19- Sanderson KE, Liu SL, Tang L and Johnston RN. *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Paratyphi A. In : Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton Y and

Schwartzman J, editors. Molecular medical microbiology, Volume 2. Boston : Elsevier, 2015 ; 1275-306.

20- Santos RL. Non-typhoidal *Salmonella* interactions with host cells. In : Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton Y and Schwartzman J, editors. Molecular medical microbiology, Volume 2. Boston : Elsevier, 2015 ; 1307-18.

21- Duval V, Maïga I, Maïga A, Guillard T, Brasme L, Forte D *et al.* High prevalence of CTX-M-type β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bamako, Mali. Antimicrob Agents Chemother. 2009 ; 53:4957-8.

22- Peterschmitt A et Stahl JP. Sulfamides et associations. Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1993.

23. Bryskier A. Fluoroquinolones (I). Classification, propriétés physicochimiques, activités antibactériennes et pharmacocinétiques. Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1999.

24. Philippon A, Arlet G et Schlemmer B. Bêtalactamines (I). Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1993.

25. Philippon A, Arlet G et Schlemmer B. Bêtalactamines (II). Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1993.

26. Caron F et Humbert G. Aminoglycosides. Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1993.

27. Lucht F. Tétracyclines. Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 2000.

28. Becq-Giraudon, Texereau M et Cazenave-Roblot F. Polymyxines. Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses, 1995.

29. Terkja DN. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen [Mémoire de master de Microbiologie]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 2013.

- 30. AKEL Z.** Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU IBN SINA-RABAT [thèse]. Rabat : Université Mohamed V de Rabat ; 2014.
- 31. KHAYAR Y.** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline – acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat ; 2011.
- 32. Bennani M.** Recherche d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet de Fin d'Études [Licence Sciences et Techniques Biologie et Santé]. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah ; 2014.
- 33. Niandou MT.** Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako ; 2005.
- 34. Saye T.** Prévalence des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au CHU du point G de 2006 à 2008 [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2012.
- 35. Bonnet R, Caron F, Cavallo JD, Chardon H, Chidiac C, Courvalin P et al.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2012. Disponible sur : <http://www.sfm-microbiologie.org/>. Consulté en Janvier 2012.
- 36. Ajdakkar S.** Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE): Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutiques [thèse]. Marrakech : Université Cadi Ayyad de Marrakech, 2015.
- 37. Jarlier V, Arnaud I, BMR-Raisin** groupe de travail. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé français-données 2012-. Saint-Maurice Inst Veill Sanit. 2014;
- 38. Bouchillon SK, Johnson BM, Hoban DJ, Johnson JL, Dowzicky MJ, Wu DH et al.** Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001-2002. *Int J Antimicrob Agents*. 2004;24(2):119–24.

39. Djahida S, Drissi M. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbas. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen (Algérie), 2011.

40. Messai L, Achour W, Ben Hassen A. Epidemiological profile of enterobacteria isolated from neutropenic patients. *Pathol Biol*. 2007; 55 : 230–4.

41. Foulal L, Zouhdi M. Profil Épidémiologique des Entérobactéries sécrétrices de bêta- lactamases à spectre élargi diagnostiquées au sein du laboratoire de Microbiologie du CHU de Rabat. Rabat : Université Mohammed V- Souissi; 2013.

42. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994;13 (Suppl 1):S17–29.

43. Sirot J, Chanal C, Petit A, Sirot D, Labia R, Gerbaud G. *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae* producing novel plasmid-mediated beta-lactamases markedly active against third-generation cephalosporins: epidemiologic studies. *Rev Infect Dis*. 1988 ; 10 : 850–9.

44. Lagha N, Abdelouahid DA, Hassaine H. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd, 2015.

45. Belmonte O, Drouet D, Alba J, Moiton MP, Kuli B, Lugagne-Delpon N. Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des bêta-lactamases à spectre élargi. *Pathol Biol*. 2010 ; 58 (1) : 18-24.

46. Duval J. Classification et mécanisme d'action des agents antimicrobiens. In : Le Minor L et Véron M, editors. *Bactériologie médicale*. Paris : Flammarion, 1989 ; 274-96.

- 47. Sangaré SA, Rondinaud E, Maataoui N, Maïga AI, Guindo I, Maïga A et al.** Very high prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in bacteriemic patients hospitalized in teaching hospitals in Bamako, Mali. PLoS ONE. 2017; 12(2): e0172652.doi:10.1371/journal.pone.0172652
- 48. Maïga II.** Epidémiologie des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi à l'Institut Gustave Roussy [Mémoire Diplôme Interuniversitaire de spécialisation de biologie médicale]. Paris : Université René Descartes, 1992.
- 49. Leotard S, Negrin N.** Epidemiology of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamase in Grasse Hospital (2005-2008). Pathol Biol. 2010 ; 58(1) : 35–8.
- 50. Paterson DL.** Resistance in Gram negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. Am J Med. 2006;119 (6 Suppl 1):S20–8; discussion S62–70.
- 51. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G.** Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:196–202.
- 52. Wu J-J, Ko W-C, Tsai S-H, Yan J-J.** Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:1223–7.
- 53. Cherkaoui A, Emonet S, Renzi G, Riat A, Greub G, Schrenzel J.** ESBL and carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. Rev Med Suisse. 2014 12;10(450):2142–8. ?????
- 54. Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V et al.** Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the French community setting. J Antimicrob Chemother. 2009;63:1205–14.

- 55. Anago E, Ayi-Fanou L, Akpovi CD, Hounkpe WB, Agassounon-Djikpo Tchibozo M, Bankole HS et al.** Antibiotic resistance and genotype of beta-lactamase producing *Escherichia coli* in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015;14(1):5.
- 56. Nicolas-Chanoine M-H, Jarlier V.** Extended-spectrum beta-lactamases in long-term-care facilities. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14Suppl 1:111–6.
- 57. Morosini M-I, García-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E et al.** Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2695–9.
- 58. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Carmeli Y.** High levels of antimicrobial coresistance among extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(5):2137–9.
- 59. Bathily-Diarra M.** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries à gram négatif isolées d'infections urinaires de 1999 à 2001 [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 2002.

IX. ANNEXES

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : KANSAYE

Prénom : Hawa

Adresse téléphonique : +22370700712

Titre de la Thèse : Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G

Date de la soutenance :

Année universitaire : 2019-2020

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et D'Odontostomatologie(FMOS) et de la faculté de pharmacie (FAPH).

Secteurs d'intérêt : Biologie médicale/ Recherche

Résumé

Objectif : Le but de notre travail était d'étudier la prévalence des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'hémoculture, de pus et de coproculture au CHU du Point G en 2016.

Méthodes : L'isolement des souches d'entérobactéries a été réalisé sur la gélose de Drigalski. L'antibiogramme a été effectué par la méthode des disques sur la gélose de Mueller-Hinton. L'identification des β -lactamases à spectre élargi (BLASE) a été faite du test de synergie entre l'acide clavulanique et deux céphalosporines de troisième génération qui sont le céfotaxime et la ceftazidime.

Résultats : Au total 174 souches d'entérobactéries ont été isolées de pus (n = 84), de selles (n = 75) et de sang (n = 15) au CHU du Point G de janvier à décembre 2016. Parmi elles, 55 (31,6 %) ont été d'origine hospitalière et 111 (63,8 %) d'origine communautaire.

Escherichia coli (n = 141), *Klebsiella pneumoniae* (n = 13) *Enterobacter sp* (n = 9), *Klebsiella oxytoca* (n = 4), *Salmonella enterica* (n = 2), *Proteus sp* (n = 2),

Proteus mirabilis (n = 1), *Morganella morganii* (n = 1) et *Raoultella ornithinolytica* (n = 1) ont été les espèces isolées.

L'imipénème, l'amikacine, la colistine, la céfoxitine et le chloramphénicol ont été les antibiotiques les plus actifs.

Les β -lactamases à spectre élargi (56,3 %) et les pénicillinases (26,4 %) ont été les principaux phénotypes de résistance. La prévalence des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi a été plus élevée en milieu hospitalier (69,1 %) qu'en milieu communautaire (49,5 %) : la différence est significative (P = 0.026). La prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi a été indépendante du prélèvement.

Escherichia coli a été la principale espèce productrice de BLASE.

Conclusion : La prévalence des entérobactéries productrices de BLASE est haute en milieu hospitalier comme en milieu communautaire à Bamako.

Mots-clés : Entérobactéries. Antibiotiques. Phénotype de résistances aux β -lactamines. Bamako.

SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.
- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !