

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE,
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple Un But Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire 2019-2020

N° :...../2020

**CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DE LA RESISTANCE AUX
ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES D'*Escherichia coli* ET DE *Klebsiella spp*
ISOLEES CHEZ LES HUMAINS, LES ANIMAUX ET DANS
L'ENVIRONNEMENT AU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX DE
BAMAKO**

Thèse présentée et soutenue publiquement le 21/07/2020 devant la Faculté de
Pharmacie par :

Monsieur Mamadou SIDIBE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Jury

Président : Prof. Abdoulaye DJIMDE

Membres : Dr. Ibréhima GUINDO

Dr. Mohamed AG BARAIKA

Co-directeur : Dr. Lassina Gadi TIMBINE

Directeur : Prof. Agrégé Bourèma KOURIBA

LISTE DES ENSEIGNANTS

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE,
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.



PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Mahamadou	CISSE	Biologie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
8	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
10	Alou A.	KEÏTA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
14	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
15	Saïbou	MAÏGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétié	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OULOQUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KÉÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahmane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
12	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
13	Fana	TANGARA	Mathématiques
14	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
15	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
16	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique



Bamako, le 3 juin 2020

**P/Le Doyen/PO
Le Secrétaire Principal**

Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACES

Je dédie ce travail :

- **A mon père feu Moussa SIDIBE,**

Merci papa d'avoir guidé mes pas et fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Père, tu m'as été d'un soutien incommensurable, sans ton éducation, ton courage et tes conseils, je ne serais certainement pas à ce niveau. Tu m'as toujours orienté vers le droit chemin, tu m'as inculqué le mérite, le travail bien fait et l'amour du prochain. Très cher père ce travail est le fruit de tes nombreux efforts, de ton vivant tu me disais toujours de « *mieux faire* », tu me voulais excellent, j'espère que, depuis le ciel tu es satisfait de ce travail.

Papa, j'aurais tellement aimé que tu sois à mes côtés présentement, mais le tout puissant en a décidé autrement. Fier d'être ton fils, tu resteras à jamais dans mon cœur. Qu'ALLAH le tout miséricordieux, le très miséricordieux t'accorde le paradis.

- **A ma mère Nakiya TOURE,**

Femme battante, intègre et dotée d'une grande gentillesse, merci maman pour tous ces sacrifices consentis pour mon épanouissement. Tu m'as toujours soutenu dans mes projets, tu as employé des grands moyens pour mon éducation, tu as toujours veillé à ce que je ne manque de rien, tu m'as donné plus qu'une mère peut offrir à son fils, merci maman pour ton amour inconditionnel.

Puisse le tout puissant t'accorder une longue vie pour que tu puisses bénéficier des fruits de tes efforts.

- **A ma mère Aminata Diallo,**

Merci mère pour ton amour, j'ai toujours bénéficié de ton soutien. Les conseils et encouragements que tu m'as prodigué prouvent juste le genre de mère exceptionnelle que tu es. Je voudrais t'exprimer toute ma profonde gratitude. Qu'ALLAH le tout puissant t'accorde une longue vie garnie de bonheur.

- **A mon frère et à ma sœur Abdoulaye et Fatoumata dite N'Deye Fatou SIDIBE,**

Je vous porte tous très fort dans mon cœur, merci pour vos encouragements. Qu'ALLAH vous bénisse et vous protège.

REMERCIEMENTS

Je rends grâce :

- **A ALLAH**

Le tout miséricordieux, le très miséricordieux, le créateur des cieux et de la terre de m'avoir assisté, de m'avoir donné le courage et la santé de terminer ce travail.

- **Au Prophète Mohamed** (paix et salut sur lui)

Je tiens à remercier :

- **Mes tontons**

Amadou et Boubacar SIDIBE, Bakary, Demba, Diamory et Ibrahima Coulibaly

Vos soutiens et conseils, ont été pour moi une source d'énergie et de motivation pour persévérer dans mes études. Je prie Dieu, qu'il vous donne une longue vie.

- **Mes tantes**

ROKIA et DJENEBA SIDIBE, Sirantou HAIDARA, feu Tenin, Massitan, Maimouna, Korotoumou COULIBALY, Tenimba et Saran DIARRA, Nafatouma et Alimata TOURE

Votre amour, vos conseils et bénédictions m'ont toujours accompagné durant ces années d'études. Merci pour tout.

- **Toute la fratrie SIDIBE**

Feu Youssouf, Mamadou, Assitan, Salimata, Mory

Merci pour votre accompagnement, vous m'avez toujours soutenu et encouragé. Merci pour votre protection.

- **Mme KABA Tiguidanké KABA, Mme Yalcoué Wassa DIAKITE et Mme NANTOUME Fatoumata KASSOGUE**

Merci pour vos bienfaits, conseils et bénédictions. Qu'ALLAH vous accorde une longue vie.

- **Docteur Alima Samba SIDIBE**

Merci pour ton coaching, tu m'as enseigné le métier du pharmacien, ton professionnalisme m'a nettement séduit et m'a donné l'amour de la pharmacie. Tu m'as toujours soutenu en me

prodiguant de bons conseils. Plus qu'un mentor, tu resteras une mère pour moi, puisse le tout puissant t'accorder une longue vie.

▪ **Tous mes maîtres**

Chers maîtres votre métier ne sera jamais rémunéré à sa juste valeur, car le don de partager le savoir est une richesse innée qui n'a juste pas de prix, alors merci pour votre abnégation.

▪ **Professeur Bourème KOURIBA**

Merci cher maître de m'avoir accepté au CICM pour l'encadrement de ma thèse, vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de diriger ce travail. Vous avez toujours veillé à ce que vos étudiants ne manquent de rien au CICM, merci pour tout.

▪ **Docteur Lassina Gadi TIMBINE**

Cher maître, vous m'avez reçu dans votre laboratoire les bras ouverts, votre professionnalisme m'inspirera certainement dans ma vie professionnelle. Merci pour tous les services rendus.

▪ **Tout le personnel de l'Officine Boubacar SIDIBE**

Je vous remercie du fond du cœur pour la gentillesse et la considération portées à mon égard.

▪ **Tout le personnel du Laboratoire Rodolphe MERIEUX**

Ce fut un énorme plaisir d'apprendre et de travailler à vos côtés, Merci pour votre sympathie.

▪ **Mes amis**

Souleymane KABA, Bilaly KEITA, Aboubacar TRAORE, Yaya DIARRA, Oumar YALCOUYE, Mohamed NANTOUME, Ibrahim BAGAYOKO, Koly DEMBELE, Mamery DOUMBIA, Lassine DIALLO, Hassane KANTE, Bakaina DIARRA, Amadou BASSOUM, Moussa FOFANA, Mariam Y TRAORE, Nailath ADEBO, Gai Frank PETTE Issa BERTHE...

Merci pour votre fraternité et les bons moments passés ensemble.

▪ **Tout le bureau de l'AEP 2016-2018 et 2018-2020**

Merci pour votre loyauté, ce fut une franche collaboration.

▪ **Mes camarades de thèse**

Mohamed Haguibou DIALLO, Hawa SYLLA, Mahamadou TOGOLA, Moussa BA et Mahamadou TOGOLA.

Merci pour votre solidarité et votre sympathie.

- **Toute la promotion Professeur feu Moussa HARAMA**

Merci pour toutes ces années passées ensemble, dans une atmosphère de convivialité et de solidarité. Le chemin fut long, et même très long, mais nous voilà au terme de notre cursus et je vous souhaite une excellente carrière professionnelle. Vous m'avez laissé de beaux souvenirs dont je ne suis pas prêt d'oublier.

- **Mes aînés de la faculté**

Merci pour votre disponibilité et vos conseils, je m'en souviendrai toujours.

- **Mes cadets de la faculté**

Merci pour votre considération.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury,

Professeur Abdoulaye DJIMDE

- ✚ Professeur Titulaire en Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie,**
- ✚ Directeur du Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (MRTC),**
- ✚ Président Fondateur de l'Association Africaine pour la Recherche et le Contrôle de la Résistance aux antimicrobiens (AAAMR).**

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines tout au long de notre formation.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge,
Docteur Ibréhima GUINDO

- ✚ Pharmacien Microbiologiste,**
- ✚ Chef de département laboratoire et de recherche biomédicale à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP),**
- ✚ Maître-Assistant en Bactériologie - Virologie à la Faculté de Pharmacie.**

Cher Maître,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail malgré votre agenda chargé. Vos qualités humaines, scientifiques et pédagogiques font de vous un Maître exemplaire.

Merci pour votre abnégation.

A notre Maître et Juge,

Docteur Mohamed AG BARAIKA

- + Pharmacien Microbiologiste,**
- + Maître-Assistant en Bactériologie -Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- + Enseignant-chercheur au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD).**

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Nous avons été impressionnés par votre abord facile, votre sympathie mais surtout votre pédagogie.

Recevez cher Maître notre profonde gratitude.

A notre Maître et Co-directeur de thèse,

Docteur Lassina Gadi TIMBINE

- + Pharmacien Microbiologiste,**
- + Directeur du Laboratoire Rodolphe MERIEUX (LRM),**
- + Chercheur au Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM).**

Cher Maître,

Merci de nous avoir accueillis dans votre laboratoire les bras ouverts, vous avez minutieusement suivi ce travail du début jusqu'à la fin. Votre disponibilité, votre générosité, votre rigueur scientifique ont forcé notre admiration.

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A notre Maître et Directeur de thèse,
Professeur Agrégé Bourèma KOURIBA**

- ✚ Maître de Conférences Agrégé en Immunologie à la Faculté de Pharmacie,**
- ✚ Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP,**
- ✚ Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM).**

Cher Maître,

Nous vous remercions d'avoir accepté de diriger ce travail. Nous avons été séduits par votre pédagogie, votre esprit critique et nous sommes fiers de l'enseignement de qualité que vous nous avez donné.

Puisse Dieu vous donner une longue vie.

SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique

Ag: Antigène

AIDA: Adhesine involved in diffuse adherence

AKN: Amikacine

AMC: Amoxicilline acide clavulanique

AMG: Aminoglycoside

AMOX: Amoxicilline

ATB: Antibiotiques

ATM: Aztréoname

BAMS: Bachelor de biologie médicale appliquée

BFP: Bundle Formin Pili

BGN: Bacille gram négatif

BLSE: Beta-lactamase à spectre étendu

BMR: Bactérie multirésistante

C2G: Céphalosporine de 2^{ème} génération

C3G: Céphalosporine de 3^{ème} génération

CA-SFM: Comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ: Ceftazidime

CFA: Colonization factor antigen

CICM: Centre d'infectiologie Charles Mérieux

CIP: Ciprofloxacine

CMI: concentration minimale inhibitrice

CPS: Polysaccharide capsulaire

CTX: Céfotaxime

DAEC: Diffuse adhering *E. coli*

EAE: Attaching and effacement

EAggEC: Enteroaggregative *E. coli*

EAST: Enteroaggregative *E. coli* heat stable enterotoxin

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*

EIEC: Enteroinvasive *E. coli*

EPEC: Enteropathogenic *E. coli*

ETEC: Enterotoxinogenic *E. coli*

GEN: Gentamicine

IMI: Imipénème

LDC: Lysine décarboxylase

LEE: Locus of enterocyte effacement

LPS: Lipopolysaccharides

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

NAL: Acide nalidixique

NOR: Norfloxacin

ODC: Ornithine décarboxylase

PLP: Protéines liant les pénicillines

RAM: Résistance aux antimicrobiens

SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la Mécilline

SHU: Syndrome hémolytique et urémique

SLT: Shiga like toxins

STX : Sulfaméthoxazole-Triméthoprime

TIC: Ticarcilline

TMN: Tobramycine

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

VP: Voges-Proskauer

VT: Verotoxine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification des principaux genres des entérobactéries.....	8
Tableau II : Caractères différentiels entre les différentes espèces du genre <i>Escherichia</i>	12
Tableau III : Principales infections dues à <i>E. coli</i> [19].	19
Tableau IV : Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre <i>Klebsiella</i> [19].	23
Tableau V : Classification, mécanismes d'action et spectre d'activité des antibiotiques.....	28
Tableau VI : facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques [41].....	46
Tableau VII : Répartition des échantillons selon les lieux de prélèvements.	50
Tableau VIII : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon leur provenance.	66
Tableau IX : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon les types de prélèvements d'origine humaine.	66
Tableau X : Répartition des souches <i>E. coli</i> isolées selon les types de prélèvements animaux.	67
Tableau XI : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon les types de prélèvements environnementaux.	68
Tableau XII : Répartition des souches de <i>K. pneumoniae subsp. pneumoniae</i> selon leur provenance.	69
Tableau XIII : Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon les types de prélèvements d'origine humaine.	69
Tableau XIV : Répartition des souches de <i>Klebsiella spp</i> isolées selon les types de prélèvements animaux.....	70
Tableau XV : Répartition des souches de <i>Klebsiella spp</i> selon les types de prélèvements environnementaux.	70
Tableau XVI : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 129 souches d' <i>E. coli</i> isolées chez l'Homme.	71
Tableau XVII : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 40 souches d' <i>E. coli</i> isolées chez les animaux.	72
Tableau XVIII : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 30 souches d' <i>E. coli</i> isolées dans l'environnement.	73
Tableau XIX : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 48 souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées chez l'Homme.....	74

Tableau XX : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 11 souches de <i>Klebsiella spp</i> isolées chez les animaux.	75
Tableau XXI : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des 26 souches de <i>Klebsiella spp</i> isolées dans l'environnement.	76
Tableau XXII : Fréquence d' <i>E. coli</i> multirésistantes et productrices de BLSE isolées chez l'Homme.....	82
Tableau XXIII : Phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i> isolées chez les humains.....	82
Tableau XXIV : Fréquence de <i>K. pneumoniae subsp pneumoniae</i> multirésistantes et productrices de BLSE isolées chez l'Homme	83
Tableau XXV : Phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches <i>K. pneumoniae</i> isolées chez les humains.....	83

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Aspect microscopique d' <i>E. coli</i> après coloration de Gram. [22].....	10
Figure 2 : Aspect macroscopique des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Uriselect. [24]	11
Figure 3 : Aspect macroscopique des colonies type <i>Klebsiella</i> sur le milieu colorimétrique Uriselect [34].....	23
Figure 4 : Noyau Beta-Lactame	38
Figure 5 : Structure des Pénicillines.....	38
Figure 6 : Structure de base des Céphalosporines.....	38
Figure 7 : Structure de base des Carbapénèmes	38
Figure 8 : Noyau de base des Aminosides	38
Figure 9 : Noyau de base des Fluoroquinolones	39
Figure 10 : Structure chimique du Sulfaméthoxazole.....	39
Figure 11 : Structure chimique du Triméthoprim.....	39
Figure 12 : Mécanisme de transmission d'un gene de resistance aux antibiotiques d'une bacterie à une autre [41].	42
Figure 13 : Automate mini Api. (Photo prise au LRM le 04/10/2019).....	54
Figure 14 : Automate VITEK 2 Compact (photo prise au LRM le 04/10/2019).....	56
Figure 15 : Antibiogramme d'un échantillon d'hémoculture au LRM (photo prise 27/06/2019)	60
Figure 16 : Antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> productrice de BLSE isolée à partir d'un échantillon d'eau de rivière (photo prise au LRM 28/02/2019).	62
Figure 17 : Répartition des 129 souches d' <i>E. coli</i> isolées selon le sexe.	65
Figure 18 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon les tranches d'âge.....	67
Figure 19 : Répartition des 48 souches de <i>K. pneumoniae subsp. pneumoniae</i> selon le sexe. 68	
Figure 20 : Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon les tranches d'âge.	69
Figure 21 : Fréquence des souches d' <i>E. coli</i> résistantes aux Bêta-lactamines selon leur origine.	77
Figure 22 : Fréquence des souches d' <i>E. coli</i> résistantes aux Aminosides selon leur origine. 78	
Figure 23 : Fréquence des souches d' <i>E. coli</i> résistantes aux Quinolones selon leur origine. . 78	
Figure 24 : Fréquence des souches de <i>Klebsiella spp</i> résistantes aux Bêta-lactamines selon leur origine.....	79

Figure 25 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux Aminosides selon leur origine..... 80

Figure 26 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux Quinolones selon leur origine..... 80

Figure 27 : Fréquence des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques selon leur origine.81

Figure 28 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux antibiotiques selon leur origine..... 81

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	1
2	OBJECTIFS	4
2.1	Objectif général :	5
2.2	Objectifs spécifiques :	5
3	GENERALITES	6
3.1	Définitions	7
3.1.1	Infection bactérienne	7
3.1.2	Bactéries	7
3.2	Caractère généraux des entérobactéries.....	7
3.2.1	Répartition en genre	8
3.2.2	Caractérisation des espèces	8
3.2.3	Classification des principaux genres	8
3.3	<i>Escherichia coli</i>	9
3.3.1	Historique	9
3.3.2	Taxonomie.....	10
3.3.3	Caractères bactériologiques	10
3.3.4	Propriétés antigéniques	12
3.3.5	Habitat	14
3.3.6	Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité	14
3.3.7	Epidémiologie	20
3.4	<i>Klebsiella ssp</i>	21
3.4.1	Histoire	21
3.4.2	Taxonomie.....	21
3.4.3	Caractères bactériologiques.....	22
3.4.4	Propriétés antigéniques	24
3.4.5	Habitat	24

3.4.6	Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité	25
3.4.7	Epidémiologie	26
3.5	Antibiotiques	27
3.5.1	Définitions	27
3.5.2	Classification et mécanismes d'action des antibiotiques	27
3.6	Résistance des bactéries aux antibiotiques	40
3.6.1	Définitions	40
3.6.2	Mécanisme de résistance des bactéries aux antibiotiques	40
3.6.3	Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques	45
3.7	Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Klebsiella spp</i>	47
3.7.1	Résistance aux antibiotiques d' <i>E. coli</i>	47
3.7.2	Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella spp</i> [8]	47
4	METHODOLOGIE.....	48
4.1	Cadre d'étude.....	49
4.2	Type et période d'étude	50
4.3	Population d'étude.....	50
4.3.1	Critères d'inclusion	50
4.3.2	Critères de non inclusion.....	50
4.4	Echantillonnage	51
4.5	Collecte des données	51
4.6	Méthodes bactériologiques	51
4.6.1	Souches bactériennes.....	51
4.6.2	Prélèvements	51
4.6.3	Examen macroscopique.....	51
4.6.4	Examen microscopique	52
4.6.5	Culture.....	53

4.6.6	Isolement et purification des souches.....	53
4.6.7	Identification	53
4.6.8	Test de sensibilité aux antibiotiques : Méthodes de diffusion des disques d'antibiotiques.....	58
4.6.9	Tests de détection des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)	61
4.7	Variables étudiées.....	62
4.8	Aspect bioéthique :	62
4.9	Analyses et traitement des données	63
5	RESULTATS	64
5.1	Résultats globaux :.....	65
5.2	Résultats descriptifs.....	65
5.2.1	<i>Escherichia coli</i>	65
5.2.2	<i>Klebsiella spp</i>	68
5.3	Résistance aux antibiotiques des souches isolées.....	71
5.3.1	<i>Escherichia coli</i>	71
5.3.2	<i>Klebsiella spp</i>	74
5.4	Résultats analytiques	77
5.4.1	Fréquence de résistances aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i> aux différentes familles d'antibiotiques testées dans les différents secteurs.	77
5.4.2	Fréquence de résistances aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella spp</i> aux différentes familles d'antibiotiques testées.	79
5.4.3	Fréquence de résistances des souches d' <i>E. coli</i> et de <i>Klebsiella spp</i> isolées des trois secteurs aux différentes familles d'antibiotiques testées.	81
5.5	Fréquence des Bactéries multirésistantes et celles productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu isolées chez les humains au LRM.....	82
5.6	Fréquence des bactéries multirésistantes et celles productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu isolées chez les animaux et dans l'environnement	83
6	DISCUSSION	84

6.1	Méthodologie.....	85
6.2	Fréquences d'isolement d' <i>E. coli</i> et de <i>Klebsiella spp</i>	85
6.2.1	Infections à <i>E. coli</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i>	86
6.2.2	Fréquence d'isolement des germes selon leur provenance	86
6.2.3	Fréquence d'isolement des germes selon les types de prélèvement.....	86
6.2.4	Infections à <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i> selon les tranches d'âges	87
6.2.5	Isolement des germes chez les animaux.....	87
6.2.6	Isolement des germes dans l'environnement	87
6.3	Niveaux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i>	87
6.3.1	Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez l'Homme. 87	
6.3.2	Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez les animaux.....	89
6.3.3	Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées dans l'environnement	89
6.4	Profils des souches d' <i>E. coli</i> et de <i>Klebsiella spp</i> multi résistantes	90
7	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	91

1 INTRODUCTION

La prévalence croissante de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est un problème crucial de santé publique. Les infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques sont associées à une morbidité et à une mortalité importantes dans le monde entier [1]. De nombreux efforts antérieurs pour lutter contre les bactéries multi résistantes (BMR) étaient concentrés sur le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) [2]. Actuellement la principale menace des bactéries résistantes aux ATB provient des organismes Gram négatifs, notamment ceux qui ont développé une résistance aux carbapénèmes [3]. Les carbapénèmes sont considérés comme des ATB de dernier recours pour le traitement des infections causées par des bactéries Gram négatifs multi résistantes. Avec l'utilisation croissante des carbapénèmes dans la pratique clinique, l'émergence d'agents pathogènes résistants aux carbapénèmes constitue désormais une grande menace pour la santé humaine [1].

En effet, le Mali dispose de peu d'infrastructure permettant de contrôler la circulation des gènes de résistance aux antimicrobiens (RAM) entre l'environnement, les animaux et les humains. La lutte contre la RAM nécessite de nouveaux outils qui ne peuvent être trouvés que grâce à une meilleure compréhension du flux des gènes de la résistance en milieu communautaire.

Les BMR tuent 700.000 personnes par an, en 2050 le chiffre sera estimé à 10 millions, si aucune action n'est entreprise [4].

Une activité presque universelle des céphalosporines et fluoroquinolones contre *E. coli* communautaire est maintenant presque compromise par la propagation mondiale des souches productrices des β -lactamases résistantes aussi aux fluoroquinolones. Depuis 2000, acquis au niveau communautaire, des souches d'*E. coli* productrices des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui hydrolysent presque toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénèmes ont été rapportées dans le monde entier [5]. Les infections causées par les BMR sont associées à des taux de mortalité, de morbidité et de coût de soins de santé plus élevés [5].

Les bactéries résistantes aux ATB ou leurs déterminants de résistance sont connus pour se transmettre des animaux aux humains via la chaîne alimentaire.

Les entérobactéries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent le tube digestif, on les trouve chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, les eaux consommées par la population peuvent être contaminées par des bactéries fécales. Elles se comportent généralement comme des bactéries opportunistes souvent

impliquées dans les infections nosocomiales, en particulier urinaire et le *K. pneumoniae* peut aussi provoquer des pneumopathies communautaires sur un terrain fragilisé [6,7].

Escherichia coli et *Klebsiella spp* sont des espèces isolées dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées et de végétaux; la présence d'*E coli* dans l'eau, les aliments ou le sol est anormale et elle permet d'apprécier leur qualité bactériologique, à ce titre *E coli* constitue un bon indicateur d'une pollution fécale[8].

Le laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) s'est engagé à contribuer à la surveillance de résistance des pathogènes aux ATB, notre étude qui s'inscrit dans ce cadre a pour but d'évaluer la résistance aux ATB des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* d'origine humaine, animale et environnementale.

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif général :

Caractériser les phénotypes de résistances aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement.

2.2 Objectifs spécifiques :

- Déterminer la fréquence d'isolement d'*E coli* et de *Klebsiella spp* au laboratoire Rodolphe MERIEUX.
- Déterminer le niveau de résistance aux ATB des souches d'*E coli* et de *Klebsiella spp* isolées de l'environnement, des animaux et des humains.
- Comparer les profils des souches d'*E coli* et de *Klebsiella spp* multi résistantes isolées chez les humains à celles isolées des animaux et de l'environnement.
- Déterminer les phénotypes de résistance aux ATB des souches d'*E coli* et de *Klebsiella spp* isolées chez les humains au laboratoire Rodolphe MERIEUX.

3 GENERALITES

3.1 Définitions

3.1.1 Infection bactérienne :

Une infection bactérienne est provoquée par une bactérie, un organisme unicellulaire dépourvu de noyau. Il existe un très grand nombre d'infections bactériennes pouvant toucher l'être humain. En fonction du type de bactérie, telle ou telle région de l'organisme sera infectée, par exemple la gorge (angine bactérienne), la vessie (cystite) ou encore le cœur (endocardite bactérienne). Si certaines infections bactériennes sont très bénignes, d'autre au contraire peuvent être mortelles [9].

3.1.2 Bactéries :

Les bactéries (*Bacteria*) sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisées par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique, le peptidoglycane. Les bactéries mesurent quelques micromètres de long et peuvent avoir différentes formes : des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles) des formes plus ou moins spiralées. L'étude des bactéries est la bactériologie, une branche de la microbiologie [10].

Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur Terre. Elles peuvent être isolées du sol, des eaux douces, marines ou saumâtres, de l'air, des profondeurs océaniques, de la croûte terrestre, sur la peau et dans l'intestin des animaux [11].

Chez l'Homme, il a été calculé que 10^{12} bactéries colonisent la peau, 10^{10} bactéries colonisent la bouche et 10^{14} bactéries habitent dans l'intestin, ce qui fait qu'il y a plus de bactéries que de cellule dans le corps humain [12,13].

3.2 Caractère généraux des entérobactéries [14,16] :

Les entérobactéries constituent une famille de bactéries très importante comportant de nombreux genres subdivisés eux-mêmes en espèces. Ce sont des bacilles à Gram négatif dont la plupart sont mobiles, grâce à des flagelles disposés de manière péritriche. Ils cultivent facilement sur les milieux usuels et sont aéro-anaérobies facultatifs. Les entérobactéries fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites et sont à oxydase négative.

Comme toutes les bactéries à Gram négatif, ils possèdent au niveau de leur paroi un lipopolysaccharide qui porte sur sa partie polysaccharidique des antigènes appelés O. Les

flagelles portent des spécificités immunologiques appelées H. Certaines espèces possèdent aussi des antigènes capsulaires de nature polysaccharidique (antigènes K). Tous ces antigènes sont de structure très variable. Ils servent ainsi à définir des sérovars (ou sérotypes) à l'intérieur d'une espèce.

3.2.1 Répartition en genre :

On distingue de nombreux genres (*Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, etc). La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimiques dont les plus importants sont : fermentation du lactose, production d'indole, production d'uréase, production d'acétoïne (réaction dite VP+), utilisation du citrate, désamination du tryptophane.

3.2.2 Caractérisation des espèces :

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K.

3.2.3 Classification des principaux genres [15] :

Tableau I : Classification des principaux genres des entérobactéries

Genres	Principales espèces
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. boydii</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella enterica</i> > 2000 sérotypes dont <i>Salmonella Typhi</i> , <i>S. paratyphi</i> A, B, C
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i>
<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
<i>Providencia</i>	<i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>

<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia pestis, Y. enterocolitica</i>

▪ **Autres Genres :**

Buttiauxella, Obesumbacterium, Koserella, Cedecea, Tatumella, Leclercia, Edwardsiella, Rahnella, Erwinia, Yokenella, Ewingella, Xenorhabdus, Kluyvera, Moellerella.

3.3 *Escherichia coli* :

3.3.1 Historique [17,18] :

En 1885, ESCHERICH décrivait *Bacterium coli* commune, un microorganisme commensal du colon. En 1895, ce même auteur retrouva cette bactérie dans les cas d'infection urinaire. Le nom d'*Escherichia coli* fut proposé par CASTELLANI et CHALMERS en 1919. Théodore ESCHERICH, en observant la fréquence des diarrhées néonatales, s'était posé la question de l'implication du colibacille dans les entérites. Après la seconde guerre mondiale, les connaissances ont convergé pour établir le concept de virulence de certaines souches d'*Escherichia coli*. Dans les années 1950, de nombreuses souches d'*Escherichia coli* ont été incriminées en tant qu'agent étiologique des diarrhées infantiles. Maintenant certaines souches « spécialisées » d'*Escherichia coli* sont associées à des pathologies très diverses (y compris extra intestinales), tant chez l'homme que chez l'animal : diarrhées, gastro-entérites, infection du tractus urinaire, méningite, septicémies, le syndrome hémolytique et urémique etc. Ainsi depuis les années 1950, les bactériologistes ont essayé, grâce aux différences antigéniques d'*Escherichia coli* de subdiviser l'espèce en sérotypes, en immunisant les lapins avec des antigènes somatiques et flagellaires.

Escherichia coli, visé par le spectre d'activité des Fluoroquinolones, est responsable de la plupart des infections urinaires dont la prévalence est très élevée. Il représente le micro-organisme le plus fréquemment isolé au cours des infections nosocomiales. L'émergence de la résistance d'*Escherichia coli* aux Fluoroquinolones a commencé dès le début des années 1990.

3.3.2 Taxonomie [19,21] :

Escherichia coli est l'espèce-type du genre *Escherichia* qui appartient lui-même à la famille des *Enterobacteriaceae*, ordre des *Enterobactériales*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*.

Le genre *Escherichia* comporte plusieurs espèces :

- *Escherichia coli*
- *Escherichia albertii*
- *Escherichia fergusonii*
- *Escherichia hermanii*
- *Escherichia vulneris*

L'espèce *Escherichia blattae* isolée en 1973 dans le tube digestif d'un cafard (blatte) n'a jamais été retrouvée dans les prélèvements humains, mais elle est maintenue à l'intérieur du genre *Escherichia* dans le manuel de Systématique Bactérienne de Bergey.

3.3.3 Caractères bactériologiques :

3.3.3.1 Morphologie :

Escherichia coli est bacille Gram négatif, assez grand ($1-1,5 \times 2-6 \mu\text{m}$), généralement mobile grâce à une ciliature péritriche.



Figure 1 : Aspect microscopique d'*E. coli* après coloration de Gram. [22]

3.3.3.2 Caractères cultureux [23] :

Aéro-anaérobies facultatifs ;

Escherichia coli se développe facilement sur les milieux ordinaires, lactosés ;

Sur milieux solides après 18-24h à 37° C *Escherichia coli* donne des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3mm de diamètre ;

E. coli pousse également sur les milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski etc.



Figure 2 : Aspect macroscopique des colonies d' *Escherichia coli* sur milieu Uriselect. [24]

▪ **Caractères constants :**

-Lactose positif (+) ;

-Indole positif (+) ;

-Gaz en glucose positif (+) sauf *E. coli* immobile, agazogène ;

-Urée négatif (-) ;

-Citrate négatif (-) ;

E. coli fermente le lactose (95% des souches), produit de l'indole à partir du tryptophane, n'utilise pas le citrate comme source d'énergie et de carbone et présente une réaction de Voges-Proskauer (VP) négative.

Concernant les décarboxylases, *E. coli* possède une lysine décarboxylase (LDC : environ 90% des souches), et une ornithine décarboxylase (ODC : environ 50% des souches), par contre ne possède pas d'arginine dihydrolase (ADH).

3.3.3.3 Caractères différentiels [21] :

Tableau II : Caractères différentiels entre les différentes espèces du genre *Escherichia*.

	<i>E. coli</i> <i>immobile,</i> <i>agazogène</i>	<i>E. coli</i> <i>mobile</i>	<i>E. fergusonii</i>	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>	<i>E. albertii</i>
Pigmentation jaune des colonies	-	-	-	+	D	-
Gaz en glucose	-	+	+	+	+	+
Indole¹	+	+	+	+	-	-
LDC¹	D	D	+	-	+	+
ODC¹	D	D	+	+	-	+
Lactose*	D	+	-	D	-	-
d= variable selon les souches						
1= caractères disponibles sur galerie API 20E (bioMerieux)						
*= fermentation						

3.3.4 Propriétés antigéniques [19,25] :

Les composants antigéniques d'*E. coli* sont variés et appartiennent principalement à trois types de structures.

- Les antigènes somatiques O qui correspondent au lipopolysaccharide de surface.

Au moins 164 spécificités antigéniques O sont connues. Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS permettent à la bactérie de se protéger contre l'action lytique du complément, la fixation des anticorps et la phagocytose. L'identification de l'antigène O (sérotipe O) est habituelle

pour décrire une souche de Colibacille. Elle est compliquée et réalisée par des laboratoires spécialisés.

- Les antigènes H qui correspondent aux protéines flagellaires et dont plus de 50 ont été identifiés en utilisant des méthodes d'agglutination en milieu liquide.

La recherche de ces antigènes est souvent délicate en raison de leur fragilité et de la faible mobilité de la part des souches lors de leur isolement. Leur identification permet de définir le sérotype d'une souche de Colibacille.

En effet le sérotype rassemble les spécificités des antigènes O (Ag O), H et possible K. La détermination du sérotype permet de caractériser une souche, en particulier les souches pathogènes et épidémiques : c'est le cas par exemple du sérotype O157 : H7 de souche entérohémorragique.

- Les antigènes de surface K de nature polysaccharidique ou protéinique.

Les antigènes K encore appelés antigènes capsulaires ou d'enveloppe ou encore antigène Vi chez *Salmonella*, ce sont des polyosides acides qui ont été initialement subdivisés en trois types à savoir : les antigènes A, B, et L. Ils masquent l'Ag O, empêchant ainsi le sérotypage lorsqu'ils sont présents. Les souches les plus pathogènes possèdent l'antigène K1. La biologie moléculaire montre l'existence de plus de 174 sérogroupes Ag O, 80 sérogroupes Ag K et 56 sérogroupes Ag H différents avec plus de 9 000 combinaisons possibles.

Malgré la diversité des génomes de la bactérie *E. coli* et les nombreuses variations dues aux phénomènes d'acquisition et de délétion de gènes, plusieurs approches moléculaires ont permis d'élaborer une signature génétique permettant de classer l'espèce *E. coli* indépendamment des notions d'*E. coli* commensal et pathogène.

- Il existe des antigènes protéiniques, appelés antigènes F qui sont présents chez les souches ayant des propriétés d'adhérence.

Les Ag F1 sont associés aux *pili* communs (*pili* de type 1 ou *fimbriae* de type1). Ils ont des résidus de mannose pour récepteurs et adhèrent donc aux structures portant ces résidus comme le mucus ou les hématies. Les souches qui les produisent sont hémagglutinantes, cette propriété est inhibée quand du mannose est ajouté aux hématies (hémagglutination sensible au mannose).

Les antigènes F2, F3..... correspondent à des propriétés d'adhérence beaucoup plus spécifiques que celles liées aux antigènes F1. En effet les bactéries qui les produisent n'adhèrent

qu'un type cellulaire précis (cellules uro-épithéliales ou cellules intestinales par exemple) et aux hématies de certaines espèces animales.

3.3.5 Habitat :

E. coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme) [14]. L'appellation commune « Colibacille » est une contraction de « bacille du côlon » rappelant son caractère de bactérie commensale du tube digestif. Il peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [16].

E. coli est d'origine fécale humaine ou animale, car il n'existe pas dans l'environnement naturel; il peut cependant survivre quelques mois dans l'eau, le sol ou sur les plantes, bien qu'il se multiplie rarement dans ces milieux, à moins que des conditions de température élevée et la présence de nutriments le permettent. Sa détection dans l'eau doit donc être considérée comme reflétant la présence possible de micro-organismes pathogènes d'origine fécale ou entérique[14].

3.3.6 Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité :

Le pouvoir pathogène chez l'homme d'*E. coli* est à la fois très important et varié. Il est responsable d'infections intestinales et d'infections extra-intestinales : infections de l'arbre urinaire, suppurations diverses, méningites et septicémies. Les souches pathogènes possèdent des propriétés (facteurs de colonisation, toxines...) spécifiques qui permettent de les regrouper dans des « pathovars » (variétés pathogènes). Chaque pathovar est associé à un syndrome infectieux caractéristique. Il en résulte que dans certains types d'infections (infections intestinales par exemple), l'identification d'une souche à l'espèce *E. coli* n'est pas suffisante pour caractériser ce syndrome et pour apprécier la responsabilité de la souche. Elle doit être complétée par celle du pathovar auquel la souche appartient [21].

3.3.6.1 Infections extra-intestinales :

- **Infection urinaire :**

L'infection urinaire est une pathologie fréquente. *E. coli* est la principale espèce bactérienne impliquée dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses (cystite) ou

hautes (pyélonéphrite) [26]. L'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravidité augmente le risque de pyélonéphrite.

Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer en prostatite. *E. coli* est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales.

- **Infection néonatale :**

Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie. L'examen de 77 souches d'*Escherichia coli* provenant du liquide céphalo-rachidien de nouveau-nés atteints de méningite a révélé 65 (84%) avec le polysaccharide capsulaire (K1). Il a été démontré que l'antigène capsulaire K1 d'*E. coli* était immunochimiquement identique au polysaccharide méningococcique du groupe B [27].

- **Infections diverses :**

E. coli est impliqué dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire : suppurations localisées ou septicémies. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales.

3.3.6.2 Infections intestinales :

E. coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique [16].

Les souches d'*E. coli* responsables d'infections intestinales, appelées aussi « *E. coli* entérovirulents » sont capables de coloniser la muqueuse digestive en détruisant les entérocytes et de produire des toxines actives sur les cellules intestinales. Elles sont actuellement classées en 6 pathovars.

3.3.6.2.1 *E. coli* entéropathogène (EPEC, « Enteropathogenic *E. coli* » ou ECEP) :

Les EPEC, responsables dans le passé d'infections infantiles graves de répartition mondiale, restent encore une cause importante de diarrhée infantile dans les grandes concentrations urbaines des pays en voie de développement. Ainsi à Sao Paulo, ils étaient responsables, d'après une étude effectuée en 1985, de près de 30% des diarrhées infantiles (enfant de moins de 6

ans) ; il s'agissait en majorité de foyers épidémiques, la plupart des souches appartenant aux sérotypes O111 : B4 et O119 : B6 [19].

L'infection par les EPEC est caractérisée par son apparition brusque et l'émission de selles aqueuses contenant du mucus mais dans lesquelles les leucocytes et le sang sont absents. Elle s'accompagne fréquemment de fièvre, malaises et vomissements surtout chez l'enfant dans la tranche d'âge 6 mois à 18 mois.

Le mécanisme du pouvoir pathogène des EPEC comporte deux volets : l'adhésion aux entérocytes de l'intestin grêle et la capacité de produire des lésions histopathologiques au niveau de la bordure en brosse des entérocytes. Le phénomène d'adhésion est précoce. Les bactéries forment des microcolonies à la surface des cellules en culture dans lesquelles elles sont reliées entre elles et à la cellule par des *fimbriae* appelés BFP (« *Bundle Forming Pili* »). Ainsi est constitué un phénotype d'adhésion de type localisé (phénotype LA) caractéristique des EPEC. Cette étape d'attachement est suivie d'une destruction des microvillosités de la bordure en bosse de l'entérocyte et d'une modification de la membrane cellulaire qui forme une zone de contact étroite avec la bactérie au niveau de laquelle se forme une condensation d'actine ; ce phénomène est décrit sous le terme d'attachement-effacement (A/E). La lésion histopathologique formée s'observe aussi bien *in vitro* sur des cellules en culture qu'*in vivo* au niveau de l'intestin d'enfants ou d'animaux infectés. Elle est sous dépendance d'un gène chromosomique appelé *eae A* (« *E. coli attaching and effacing* ») qui code pour une protéine de 14 Kda appelée intimine. L'ensemble des gènes nécessaires à l'expression du phénomène d'attachement-effacement est regroupé dans un même locus chromosomique de 35 kb, appelé LEE (« *Locus of Enterocyte Effacement* ») [8].

3.3.6.2.2 *E. coli* entérotoxigène (ETEC, « Enterotoxinogenic *E. coli* » ou ECET) :

Les ETEC sont fréquemment responsable de la « diarrhée du voyageur » et constituent la principale cause de diarrhée infantile dans les pays en voie de développement où la plupart des enfants présentent 2 à 3 infections à ETEC par an [19]. Ils sont à l'inverse rarement incriminés dans les pays industrialisés. L'infection est réalisée par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminée et se manifeste après colonisation du tube digestif par des phénomènes de diarrhée liquidienne aigue, crampes abdominales, nausées et par une fièvre légère.

Le pouvoir pathogène des ETEC est dû à leur capacité de coloniser les entérocytes de l'intestin grêle et de sécréter des toxines cytotoxiques (entérotoxines) entraînant une fuite d'eau et d'électrolytes en agissant localement sur les cellules intestinales [19].

Les facteurs d'adhésion des ETEC sont des filaments protéiniques rigides d'une longueur variant entre 20 et 200 nanomètres et d'un diamètre de 7 nanomètres. Ils confèrent à la bactérie un pouvoir d'adhésion spécifique (les souches humaines ne peuvent adhérer qu'aux entérocytes d'origine humaine). Une dizaine de facteurs d'adhésion appelés CFA (« colonization Factor Antigen ») et confèrent généralement aux bactéries des propriétés hémagglutinantes.

Les entérotoxines produites par les ETEC sont de deux types. D'une part, il s'agit d'une toxine thermolabile (entérotoxine LT) dont la structure complexe et les propriétés sont très voisines de celle de la toxine cholérique. D'autre part il s'agit de l'entérotoxine thermolabile (ST) constituée de 19 résidus aminés dans sa forme mature. Elles ont un effet cytotonique qui se traduit par l'augmentation de la production intra-entérocytaires de deux principaux seconds messagers intracellulaires (AMPc et GMPc) qui contrôle la sécrétion ionique [16].

3.3.6.2.3 *E. coli* entéroinvasif (EIEC, « Enteroinvasive *E. coli* » ou ECEI) :

Les EIEC sont pathogènes pour les enfants et les adultes. Ils sont responsables d'un syndrome dysentérique analogue à celui provoqué par les Shigelles (dont ils sont d'ailleurs très proches sur le plan taxonomique), caractérisé par la fièvre et une diarrhée sanglante et purulente. L'incidence des infections dues à des EIEC paraît faible, peut-être en raison des difficultés rencontrées pour les identifier et de la confusion possible avec des Shigelles [8].

Le pouvoir pathogène des EIEC est caractérisé par leur capacité à envahir et à se multiplier dans les cellules épithéliales du côlon. Le phénomène d'invasion est précédé d'une étape au cours de laquelle se manifeste une diarrhée aqueuse probablement due à l'action d'une entérotoxine et/ou d'une cytotoxine [8].

3.3.6.2.4 *E. coli* entérohémorragique (EHEC, « Enterohemorrhagic *E. coli* » ou ECEH) :

Les EHEC sont responsables de colites hémorragiques sporadiques ou épidémiques. Les premiers cas ont été observés aux Etats-Unis en 1982 dans le Michigan et l'Oregon et au Canada en 1983. Ils étaient dus à une souche d'*E. coli* sérotype O157 : H7 qui contaminait la viande de hamburger. Actuellement, la majorité des souches d'EHEC isolées dans les selles des patients appartiennent au sérotype O157 et au sérotype O157 : H7. Cependant, des souches plus rares font partie d'un autre sérotype, dont : O111, O26, O55 et O128 [19].

Les symptômes principaux de l'infection par cette bactérie sont : une diarrhée aqueuse suivie d'une colite hémorragique caractérisée par des crampes abdominales sévères et une diarrhée sanglante. Le patient n'est pas fébrile et les selles ne contiennent pas de leucocytes (ce qui différencie ce syndrome de la diarrhée dysentérique due aux EIEC ou aux *Shigella*). Dans moins de 10% des cas, surtout chez le jeune enfant et le vieillard, l'état général peut s'aggraver et évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) caractérisé par une insuffisance rénale aiguë et parfois vers un purpura thrombotique thrombocytopénique [19].

Le pouvoir pathogène des EHEC est relié à deux propriétés spécifiques fondamentales : l'adhérence des bactéries aux cellules intestinales humaines et la synthèse d'exotoxines.

Le phénomène d'adhérence est semblable à celui mis en jeu par les EPEC.

Les exotoxines sécrétées sont appelées « *Shiga like toxins I et II* » (SLT-I et SLT-II) en raison de leur homologie avec la toxine produite par *Shigella dysenteriae* sérotype 1. Ces toxines sont aussi appelées Verotoxine (VTI et VTII) car elles sont actives (mort cellulaire obtenue en 3 jours) sur les cellules Vero en culture [19].

Deux protéines ont été décrites chez *E. coli* O157 : H7 semblent jouer un rôle dans le pouvoir pathogène. Ce sont une hémolysine et une sérine protéase.

L'hémolysine appelée « EHEC entérohémolysine », a été identifiée d'abord chez *E. coli* O157 : H7 puis chez des *E. coli* appartenant à un groupe différent de O157. Cette toxine, qui a un support génétique plasmidique est responsable d'une lyse de cellules consécutive à la fuite du contenu cytoplasmique due à la formation de pores dans la membrane bilipidique [7].

La sérine protéase extracellulaire inactive le facteur V de la coagulation. Elle pourrait contribuer au syndrome de saignement observé chez les patients.

3.3.6.2.5 *E. coli* entéroagregatif (EAggEC, « Enteroaggregative *E. coli* » ou ECEAg) :

Les EAggEC sont responsables de diarrhées du nourrisson et des jeunes enfants qui sévissent dans les pays émergents. Les troubles intestinaux sont identiques à ceux dus aux EPEC mais sont plus persistants.

Le mécanisme pathogène mis en jeu par ces bactéries est mal connu. Cependant, elles forment d'une manière constante des agrégats en forme d'amas de brique à la surface des cellules en culture. Cette propriété d'adhésion (phénotype agrégatif) est particulière et spécifique ; elle est reliée à la présence du facteur d'adhésion AAF/1 dont l'origine est plasmidique et la

structure protéique et qui est organisé sous la forme fimbriale à la surface des bactéries. D'autre part, les EAaggEC peuvent produire une entérotoxine thermostable appelée EAST-1 (« Enteroaggregative *E. coli* heat stable enterotoxin ») [8].

3.3.6.2.6 *E. coli* adhésion diffuse (DAEC, « Diffuse-adhering *E. coli* » ou ECAD) :

Les DAEC ont d'abord été classés parmi les EPEC en raison de leur sérotype et de leur présence dans des selles d'enfants atteints de diarrhée. Dans ce groupe, ils formaient la classe II étant donné leur phénotype d'adhésion particulier (adhésion diffuse), la classe I ayant été réservée aux souches douées de propriétés d'adhésion conférant le phénotype localisé. Il semblerait que seules certaines tranches d'âge parmi la population pédiatrique (48-60 mois) développent des diarrhées dues à ces germes.

Leur pouvoir pathogène est encore controversé et les résultats des études épidémiologiques les concernant sont contradictoires. Ils sont caractérisés par leurs propriétés d'adhérence. Les bactéries sont réparties sur la surface des cellules intestinales ou de cellules d'autres origines sans former d'amas particuliers (adhésion de type diffus, DA). Deux facteurs d'adhésion conférant ce phénotype ont été identifiés : un *fimbriae* appelé F1845 et une protéine de membrane externe appelée AIDA-I (« *Adhesine involved in diffuse adherence* ») [19].

Tableau III : Principales infections dues à *E. coli* [19].

Infections intestinales	Infections extra-intestinales
<p>ETEC : Epidémies chez les enfants dans les pays en voie de développement. Diarrhées du voyageur.</p> <p>EPEC : Diarrhées infantiles aiguës ou chroniques. Epidémies dans les maternités ou les crèches.</p> <p>EIEC : Syndromes dysentériques. Diarrhées chez les adultes.</p> <p>EHEC : Colites hémorragiques. Epidémies dans les crèches et les écoles.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Infections de l'arbre urinaire : cystites, pyélonéphrites. • Infections abdominales paraintestinales : appendicites, péritonites. • Autres : <ul style="list-style-type: none"> - Septicémies, méningites néonatales. - Suppurations diverses (infections ostéo-articulaires). - Prostatites

EAggEC : Diarrhées persistantes dans les pays en voie de développement.	
DAEC : Rôle pathogène non prouvé	

3.3.6.3 Facteurs de pathogénicité [16] :

3.3.6.3.1 Capsule :

Elle est de nature polysaccharidique. On en connaît 80 variétés immunologiques différentes (antigènes K). La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément. La capsule de type K1 est peu immunogène (elle a la même structure que la capsule du méningocoque du groupe B). Ce sont les *E. coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néonatales.

3.3.6.3.2 Adhésines :

De multiples adhésines ont été décrites. Elles peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales en culture. L'aspect que revêt l'interaction avec les cellules épithéliales peut donner une indication sur le type d'adhésine en cause. La plupart des adhésines se présentent sous forme de *fimbriae*.

3.3.6.3.3 Toxines :

Certaines souches peuvent produire une hémolysine, une entérotoxine thermolabile (LT) ou thermostable (ST) ou bien une toxine analogue à la toxine de *Shigella dysenteriae*, la Shiga-like toxin (SLT ou Stx).

3.3.7 Epidémiologie :

En 1982, deux épidémies de colites hémorragiques survenues dans le nord des Etats-Unis impliquaient des patients ayant consommé des hamburgers provenant de la même chaîne de restauration rapide. Une souche d'*E. coli* d'un sérotype alors inhabituel, O157:H7 (O désignant l'antigène de paroi, H l'antigène flagellaire), était isolée des selles des patients et du lot de hamburgers incriminé. A la même année une centaine d'épidémies, documentées impliquant O157:H7 ont été rapportées aux Etats-Unis. La plus importante, survenue en 1993, a touché plus de 700 personnes, dont 55 ont développé un SHU avec 4 décès. En 1996 et 1997, d'autres épidémies d'envergure ont touché l'Allemagne, le Japon (plus de 9 000 cas, 8 décès) et l'Ecosse (400 cas, 18 décès) [28].

L'*E. coli* est l'espèce bactérienne la plus isolée dans les infections urinaires. T. Coeffic et al en 2018 en France, ont retrouvé sur 229 844 antibiogrammes de souches urinaires, 199 465 souches d'*E. coli* soit 86.8% puis 19 803 souches de *K. pneumoniae* soit 8.6 % [29]. Au Mali les souches d'*E. coli* prédominent dans les infections urinaires notamment, 62.92% des germes isolés au LRM de 2016 à 2017 et 70% des germes isolés au CHU du point G en 2015 [30].

3.4 *Klebsiella ssp* :

3.4.1 Histoire :

Klebsiella pneumoniae, également appelé bacille de Friedländer, a été décrit pour la première fois en 1882 par le microbiologiste et pathologiste allemand Carl Friedländer.

K. pneumoniae est surtout connu pour être un agent pathogène du système respiratoire humain responsable de la pneumonie. La maladie ne concerne généralement que les patients présentant des problèmes médicaux sous-jacents tels que l'alcoolisme ou une maladie pulmonaire chronique et se présente souvent sous la forme d'une infection nosocomiale (infection associée à un traitement invasif ou à des soins de longue durée dans des hôpitaux ou d'autres établissements de soins de santé communautaires) [31].

Traditionnellement, les bactéries *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* étaient reconnues comme des espèces distinctes, mais des études d'ADN indiquent qu'elles devraient être classées dans la sous-espèce de *K. pneumoniae*; à des fins médicales, toutefois, les distinctions d'espèce sont toujours observées. Parmi les autres espèces de *Klebsiella* figurent *K. oxytoca* et *K. planticola*, qui, avec *K. pneumoniae*, peut provoquer des infections des voies urinaires et des plaies chez l'Homme. *K. planticola* et certaines souches de *K. pneumoniae* ont été isolées des racines de plantes telles que le blé, le riz et le maïs, où elles agissent en tant que bactéries fixatrices d'azote. *K. variicola*, découvert en 2004, est également présent sur diverses plantes, notamment le riz, les bananes et la canne à sucre. Cette espèce de bactérie a également été isolée en milieu hospitalier, où elle peut jouer le rôle d'agent pathogène opportuniste, similaire à d'autres organismes de *Klebsiella* [31].

3.4.2 Taxonomie [32] :

Le genre *Klebsiella* fait partie de la famille des *Entérobactériaceae*, au sein de laquelle il regroupe avec le genre *Shigella* des espèces immobiles.

- **Règne :** *Bacteria*
- **Embranchement :** *Proteobacteria*

- **Classe :** *Gamma Proteobacteria*
- **Ordre :** *Enterobacteriales*
- **Famille :** *Enterobacteriaceae*
- **Genre :** *Klebsiella*
- **Espèce :** il existe plusieurs notamment :

K. pneumoniae comportant trois sous-espèces : (*Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*), *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella variicola*, *Klebsiella singaporensis*.

3.4.3 Caractères bactériologiques :

3.4.3.1 Morphologie :

Les *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif, toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli*, très souvent encapsulés.

Klebsiella pneumoniae a la forme d'une canne. Il est court, il mesure entre 1 et 2µm de long sur 0,5 - 0,8µm de large. Les cellules peuvent être organisées individuellement, par paires, en chaînes et parfois en groupes. Il n'a pas de flagelle (il n'est donc pas mobile) et possède une capsule proéminente[33].

3.4.3.2 Caractères cultureux [21]:

L'aspect des cultures est en général très florissant : colonies grasses de 3 à 4 mm de diamètre en 24 heures pour *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, plus tardivement 48-72 heures pour *Klebsiella pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis* et *Klebsiella pneumoniae subsp. Ozaenae*. La présence d'une capsule rend les colonies muqueuses et parfois filantes.

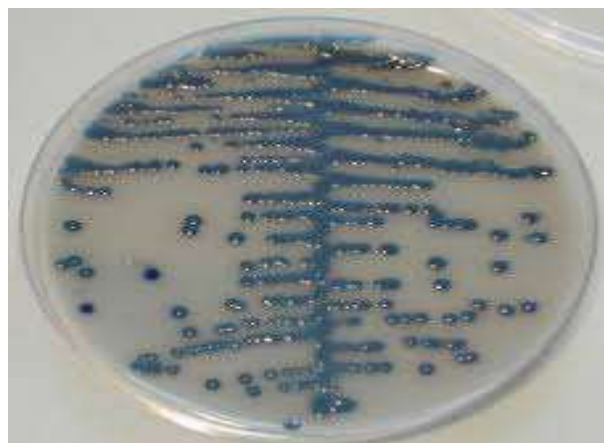


Figure 3 : Aspect macroscopique des colonies type *Klebsiella* sur le milieu colorimétrique Uriselect [34].

▪ **Caractères constants [33] :**

Bactéries non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives.

Klebsiella oxytoca et *Klebsiella pneumoniae* donnent une réponse positive aux tests ONPG, LDC et assimilation du citrate ainsi qu'aux tests VP et uréase.

3.4.3.3 Caractères différentiels :

Tableau IV : Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre *Klebsiella* [19].

Test	<i>K. pneumoniae</i>			<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella terrigena</i>	<i>Klebsiella planticola</i>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
	<i>subsp. pneumonia</i>	<i>subsp. ozaenae</i>	<i>subsp. rhinocleromatis</i>				
Indole	-	-	-	+	-	d	+
ODC	-	-	-	-	-	-	+
LDC	+	D	-	+	+	+	+
VP	+	-	-	+	+	+	+
Croissance et fermentation du glucose à :							
4° C	-	-	-	-	+	+	+
10° C	-	-	-	+	+	+	+
41° C	+	+	+	+	-	+	+

3.4.4 Propriétés antigéniques :

Des travaux antérieurs ont montré que les deux structures glucidiques de surface de *Klebsiella pneumoniae*, son polysaccharide capsulaire (CPS) et la partie antigène-O de son LPS, sont d'importants déterminants pathogènes. En tant que composants les plus externes de la surface bactérienne, ces structures sont parmi les premières rencontrées par le système immunitaire inné et sont censées défendre contre l'opsonisation (par le complément et d'autres opsonines innées) et la phagocytose. Des travaux récents ont démontré que, parmi les deux, CPS « antigène K » plutôt que l'antigène O est le facteur le plus important de la virulence chez *Klebsiella* [35].

Historiquement, les isolats de *Klebsiella* ont été classés en sérotypes et suivis à l'aide d'antisérums de typage. Le sérotypage est basé sur la reconnaissance de variations distinctes de polysaccharides exposés en surface, à savoir les antigènes O et les antigènes K, par des anticorps spécifiques, produisant différents sérotypes O et K. Les antigènes O constituent la partie la plus externe du LPS, tandis que les antigènes K appartiennent au polysaccharide de la capsule bactérienne (CPS). Le nombre de sérotypes a été estimé à huit pour les antigènes O et à 77 pour les antigènes K [36].

3.4.5 Habitat :

Klebsiella est un agent pathogène opportuniste commun chez l'homme et d'autres animaux, en plus d'être une flore résidente ou transitoire (en particulier dans le tractus gastro-intestinal). Les autres habitats comprennent les eaux usées, l'eau potable, les sols, les eaux de surface et la végétation.

K. pneumoniae subsp. pneumoniae est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sols, d'eaux de surface, eaux usées, de la végétation et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. Chez l'homme cette espèce est isolée des selles chez 30% des individus et est isolée dans certaines circonstances pathologiques communautaires et nosocomiales. Au cours des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales [19].

Les associations d'habitat général des espèces de *Klebsiella* sont les suivantes: *K. pneumoniae* l'homme, les animaux, les eaux usées et les eaux et sols pollués; *K. oxytoca* association fréquente avec la plupart des habitats; *K. terrigena* eaux de surface et sols non pollués, eau

potable et végétation; *K. planticola* eaux usées, eaux de surface, sols et végétation pollués; et *K. ozaenae* / *K. rhinoscleromatis* peu souvent détecté (principalement chez l'homme) [37].

3.4.6 Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité :

K. pneumoniae subsp. pneumoniae est responsable d'infections communautaires et d'infections nosocomiales. Parmi les infections communautaires *K. pneumoniae* est responsable d'infections broncho-pulmonaires incluant les pneumonies lobaires nécrosantes, les abcès pulmonaires et les pleurésies purulentes. Cette espèce est également responsable d'infections intra-abdominales. C'est surtout un actuel agent d'infections nosocomiales responsable d'infections urinaires sur sonde, de bactériémies, de pneumonies, d'infections de sites opératoires et d'infections néonatales.

K. pneumoniae subsp. ozaenae est responsable d'une rhinite chronique atrophique décrite sous le nom d'ozène. Cette infection se manifeste par une ulcération chronique de la muqueuse nasale pouvant aboutir à une perforation du cartilage nasal, accompagnée de décharges nasales purulentes et nauséabondes. *K. pneumoniae subsp. ozaenae* a également été isolée à partir de surinfections de bronchite chronique, de bactériémies, de méningites, d'abcès cérébraux, d'otites, d'infections urinaires, de surinfections de plaies et d'ulcères de la cornée. *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* est responsable du rhinosclérome, infection granulomateuse chronique des voies aériennes supérieures, dont quelques cas ont été rapportés chez des patients infectés par le VIH. *K. oxytoca* est une espèce essentiellement responsable d'infections nosocomiales à type d'infections urinaires, de pneumonies et de bactériémies. *K. planticola* représenterait 8-19% des isolats cliniques de *Klebsiella* associés à différentes situations cliniques dont les septicémies, cette espèce est responsable de colonisation néonatale. *K. terrigena* représenterait 0.4% des isolats cliniques et a été isolée à partir de prélèvements bronchopulmonaires, de plaies et d'urines [19].

K. granulomatis, cause la donovanose ou le granulome, une affection chronique ulcéreuse qui touche principalement les organes génitaux. Les principaux symptômes sont l'apparition de petites papules ou d'ulcères au point d'inoculation qui se transforment ensuite en ulcères rouges de grande taille (lésions) bordant les replis humides des organes génitaux [32].

Les facteurs de pathogénicité ont été étudiés essentiellement chez *K. pneumoniae* et comportent les adhésines, la résistance au pouvoir bactéricide du serum, les antigènes capsulaires qui

déterminent 77 sérotypes, les antigènes du lipopolysaccharide déterminant 8 sérotypes et les sidérophores.

3.4.7 Epidémiologie :

Les espèces du genre *Klebsiella* sont présentes dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales. Elles sont ubiquistes, c'est-à-dire qu'on les rencontre partout, notamment dans les milieux forestiers, la végétation, le sol, l'eau et les muqueuses des espèces hôtes. Bien que ces agents pathogènes soient souvent en cause dans les cas de pneumonie et de bactériémie d'origine communautaire, ils causent principalement des infections nosocomiales (contractées à l'hôpital; 56 % de toutes les infections à *Klebsiella*). On considère que les espèces du genre *Klebsiella* sont endémiques dans les services de néonatalogie, et les éclosions nosocomiales, en particulier dans ce type de services, sont fréquentes. Les hommes adultes sont plus vulnérables à l'infection par *Klebsiella* que les femmes; toutefois, les espèces de ce genre affichent des taux de colonisation élevés chez les nouveau-nés, où ils peuvent survivre quelques mois, comparativement à quelques jours ou semaines chez l'adulte. Le risque d'infection et le taux de portage de *Klebsiella* augmentent avec la durée du séjour à l'hôpital. Par ailleurs, les taux d'infection et de portage augmentent avec l'utilisation d'agents antimicrobiens, ce qui conduit en général à l'apparition de BLSE qui confèrent une résistance aux antibiotiques.

K. pneumoniae est l'espèce du genre *Klebsiella* la plus pathogène pour l'humain, suivie de *K. oxytoca* [32].

K. ozaenae et *K. rhinoscleromatis* causent des maladies spécifiques chez l'humain. *K. granulomatis* et *K. variicola* ont également été reconnues comme étant pathogènes pour l'humain. *K. singaporensis* étant très récente, sa pathogénicité pour l'humain n'a pas encore été déterminée. Si les infections à *Klebsiella* sont moins nombreuses que celles causées par d'autres agents pathogènes, celles-ci sont associées à une morbidité et à une mortalité importantes. *K. pneumoniae* est présente dans le rhinopharynx et le tractus intestinal de l'humain à l'état de saprophyte. C'est l'une des premières causes de pneumonie d'origine communautaire. C'est aussi une cause importante d'abcès hépatique primaire et d'infection des espaces faciaux chez les patients diabétiques en Asie, en particulier à Taïwan. Cette espèce est communément isolée dans les infections de brûlures et de morsures humaines. Récemment, elle devient une cause de plus en plus fréquente de diarrhée chronique chez les adultes infectés par le VIH en Afrique. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont des agents étiologiques importants des abcès cérébraux et de la méningite d'origine communautaire en Asie, principalement à Taïwan. D'après certains

rapports, les espèces du genre *Klebsiella* sont responsables de 16 à 43 % des abcès cérébraux et des infections du système nerveux central. Il a été démontré que les souches de *K. pneumoniae* présentes dans l'environnement sont aussi virulentes que les souches cliniques; toutefois, il reste à déterminer si cela est également vrai pour les autres espèces du genre *Klebsiella* [32].

3.5 Antibiotiques :

3.5.1 Définitions :

Selon WAKSMAN (1943) un antibiotique est "toute substance chimique produite par des micro-organismes capable d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes" [38].

Selon TURPIN ET VELU (1957), un antibiotique est " tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certains êtres pluricellulaires"[38].

Les ATB sont des substances ayant la capacité de tuer les microorganismes (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique), ils peuvent être naturels ou synthétiques et leur mécanisme d'action est très variable de même que leur spectre d'activité.

3.5.2 Classification et mécanismes d'action des antibiotiques [39–41]:

3.5.2.1 Critères de classification :

La classification des ATB peut se faire selon leur :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

- **Nature chimique :** très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en famille (Bêta-lactamines, Aminosides, Tétracyclines...).

3.5.2.2 Principes d'action d'un antibiotique :

Pour qu'un ATB agisse sur une bactérie il faut qu'il :

- Pénètre dans la bactérie ;
- Ne soit ni modifié ni détruit par la bactérie ;
- Trouve chez la bactérie un point d'impact ou cible sur laquelle il se fixe pour désorganiser la structure ou perturber le métabolisme de la bactérie.

Tableau V : Classification, mécanismes d'action et spectre d'activité des antibiotiques.

FAMILLE		DCI	SPECTRE D'ACTIVITE	MECANISME D'ACTION
Bêta-lactamines	Pénicilline G & Pénicilline V	Benzyl-pénicilline (Péni G)	Cocci Gram + : Staphylocoques et Streptocoques	-Inhibent la synthèse du peptidoglycane (principal constituant de la paroi) -Par fixation sur les enzymes de la membrane cytoplasmique bactérienne et, -Par inhibition compétitive
		Bénéтамine Benzathine Phénoxyéthyl-pénicilline (Péni V)	Cocci Gram- : Méningocoques rare Baccille Gram+	

	<p>Pénicilline M</p>	<p>Méthicilline Oxacilline Cloxacilline</p>	<p>Cocci G + : Streptocoque (sauf les entérocoques), Staphylocoques producteurs de pénicillinase Cocci Gram - : Gonocoque, Méningocoque NB : SARM résiste à toutes les β-lactamines.</p>	<p>(analogie de structure entre β-lactamines et le substrat des PLP). -Cible : protéines liant les pénicillines (PLP). -Effet bactéricide</p>
	<p>Pénicilline A</p>	<p>Ampicilline Pivampicilline Bacampicilline Amoxicilline</p>	<p>Spectre des Pénicillines G élargi aux entérocoques, entérobactéries du groupe 1 (<i>colibacilles</i>, <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>), <i>Haemophilus influenza</i>, <i>Helicobacter</i></p>	

			<i>pylori, Vibrio, Brucella.</i>
	Amidinopénicillines	Mécillinam Pivmécillinam	Bacille Gram - : Entérobactéries particulièrement <i>Klebsiella</i> résistant à l'Ampicilline
	Carboxypénicilline & Uréidopénicilline	Ticarcilline Pipéracilline	Plus large que les Péni A, action sur d'autres entérobactéries : <i>Enterobacter,</i> <i>Serratia,</i> <i>Providencia,</i> <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>

	Oxapénames & Sulfopénames	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline+Acide clavulanique Ampicilline+ Sulbactam Pipéracilline + Tazobactam	Cocci Gram +, Cocci Gram -, Bacille Gram +, Bacille Gram - élargi aux entérobactéries de groupe 2 (<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i>), aux espèces sécrétrices de β -lactamases plasmidiques.
	Céphalosporines de 1^{ère} génération	Céphalexine Céfaclor Céfadroxil Céphalotine Céfazoline	Proche de Pénicilline A avec une meilleure résistance aux pénicillinases

Céphalosporines de 2^e génération	Céfoxitine Céfuroxime Céfamandole Céfotetan	Identique aux Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	
Céphalosporines de 3^e génération	Céfotaxime Ceftriaxone Ceftazidine Cefpirome Cefpodoxime Céfépime Céfixime	Agissent sur l'ensemble des entérobactéries avec une CMI 10 à 50 fois plus basse que les autres céphalosporines. Active sur <i>H. influenzae</i> et sur <i>P. aeruginosa</i>	
Autres céphalosporines	Cefpirome Cefquinome Céfopérazone Céfotiam	<i>Pseudomonas</i> , Cocci Gram -, entérobactéries	

	Carbapénèmes	Imipénème Méropénème Ertapénème Doripénème	Bactéries à Gram+, Gram – aérobie et anaérobie.	
	Monobactams	Aztréonam	Actif uniquement sur les bacilles à Gram –	
Aminosides		Streptomycine Néomycine Framycétine Paromycine Kanamycine Gentamycine Tobramycine Sisomycine Amikacine Nétilmicine Spectinomycine	-Entérobactéries, <i>Brucella, Listéria</i> -Sensibilité inconstante (SARM, <i>Pseudomonas</i>) -Action spécifique : Spectinomycine (gonocoque).	-Inhibent la synthèse protéique par fixation sur le ribosome 30S avec effet post antibiotique. -Inhibition de toutes les étapes de la synthèse protéique (initiation, élongation, terminaison). -Effet bactéricide.

<p>Glycopeptides</p>	<p>Vancomycine Téicoplanine Télavancine Dalbavancine Oritavancine</p>	<p>-Spectre étroit limité aux Gram+ : SARM, Staphylocoque à coagulase (-), Streptocoque y compris les entérocoques, <i>Listéria</i>, anaérobie Gram+ (<i>Clostridium difficile</i>)</p>	<p>-Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. -Effet bactéricide.</p>
<p>Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS)</p>	<p>Erythromycine Roxythromycine Clarithromycine Azithromycine Spiramycine Josamycine Midecamycine Lincomycine Clindamycine Pristinamycine</p>	<p>-Spectre des Pénic G et M + <i>Clostridium</i>, <i>Treponema</i> -Germs intracellulaires : <i>Chlamydia</i>, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> et <i>ureaplasma urealyticum</i>, <i>Coxiella burnettii</i>. -Certains prozoaires : <i>Toxoplasma gondii</i>.</p>	<p>-Inhibition de la synthèse protéique par fixation sur la sous-unité 50S des ribosomes bactériens (blocage de l'élongation). -Effet bactériostatique.</p>

<p>Cyclines</p>	<p>Tétracycline Métacycline Minocycline Doxycycline</p>	<p>-<i>Brucella</i>, <i>yersinia</i>, <i>vibrio</i>, <i>Neisseria</i>, <i>Listéria</i> -Intracellulaires : <i>Mycoplasma</i>, <i>Chlamydia</i>, <i>Rickettsies</i> -Parasites : <i>Plasmodium</i></p>	<p>-Fixation irréversible sur la sous-unité 30S du ribosome et inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique. - Effet bactériostatique.</p>
<p>Quinolones</p>	<p>Acide nalidixique Acide pipémidique Ciprofloxacine Lévofloxacine Norfloxacine Péfloxacine Ofloxacine Enoxacine Moxifloxacine</p>	<p>SARM, Gonocoques, Méningocoques, <i>Legionella</i>, <i>Haemophilus</i>, entérobactéries, <i>Campylobacter</i>, <i>Vibrio</i>. -Inconstamment sensible : Pneumocoques, Streptocoques, entérocoques, Chlamydiae, mycobactéries.</p>	<p>-Inhibition des topoisomérases IV et de l'ADN gyrase. -Blocage de la synthèse de l'ADN et de la croissance bactérienne. -Effet bactéricide.</p>
<p>Phénicolés</p>	<p>Chloramphénicol Thiamphénicol</p>	<p>Bactérie à Gram+ et Gram-</p>	<p>-Inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique par fixation sur la</p>

			sous-unité 50S du ribosome.
Sulfamides	Sulfadiazine Sulfaméthizol Sulfaméthoxazole + Triméthoprim Sulfurazole + Erythromycine, Sulfadoxine + pyriméthamine	-SARM, <i>Listéria</i> , <i>Pneumocoques</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Toxoplasma</i> , entérobactéries du groupe 1, <i>Plasmodium</i> <i>faciparum</i> , <i>Chlamydia</i>	-Les sulfamides inhibent la synthèse des folates, acides puriques en se fixant sur la dihydroptérase. -Triméthoprim inhibe la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydrofolate réductase. -Effet bactériostatique.
Acides fusidiques	Acide fusique	Bactérie à Gram + (infections staphylococciques)	Inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique.
Fosfomycine	Fosfomycine	-Cocci à Gram positif (Staphylocoques et Streptocoques).	Inhibition de la synthèse d'un précurseur du peptidoglycane.
Polymyxines	Polymyxine B Polymyxine E ou Colistine	Bacille Gram – (excepté : <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> ,	Altération de la membrane

		<i>Serratia</i> , <i>Pseudomonas</i>)	plasmique par formation de pores.
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne Nifuroxazide	Spectre large, utilisés dans le traitement des infections urinaires ou intestinales.	Altération de l'ADN après réduction du NO ₂
Nitro-imidazolés	Métronidazole Ornidazole Tinidazole	Bactérie anaérobies, Bacille Gram- et Gram+ sporulés	Coupure des brins d'ADN par formation de radicaux libres.
Oxazolidones	Linezolid Tedizolid	SARM, Enterocoques résistant à la vancomycine, <i>Streptococcus pneumoniae</i> résistant à la pénicilline	Inhibition de la synthèse protéique par action sur l'unité ribosomale 50S.

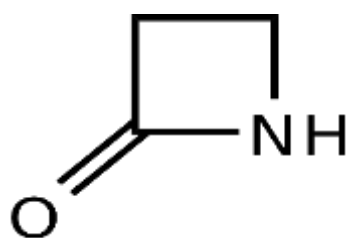


Figure 4: Noyau Beta-Lactame

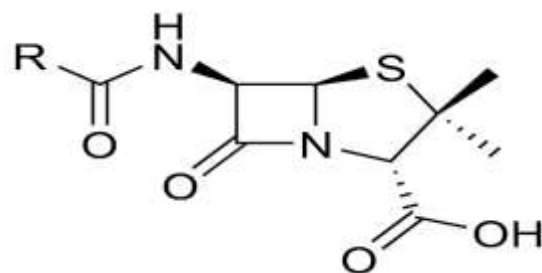


Figure 5: Structure des Pénicillines

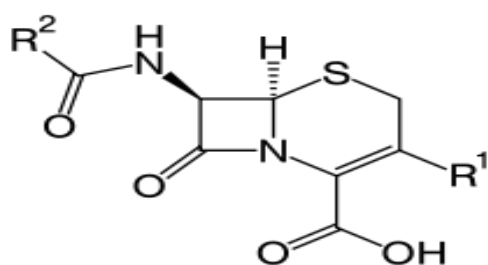


Figure 6: Structure de base des Céphalosporines

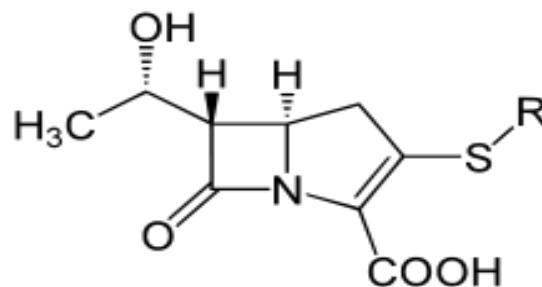


Figure 7: Structure de base des Carbapénèmes

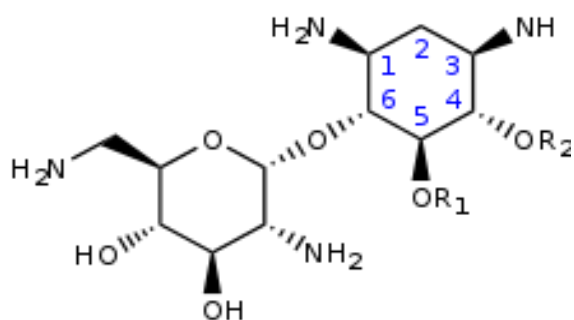


Figure 8: Noyau de base des Aminosides

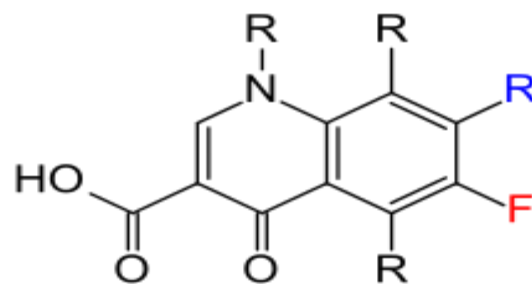


Figure 9: Noyau de base des Fluoroquinolones

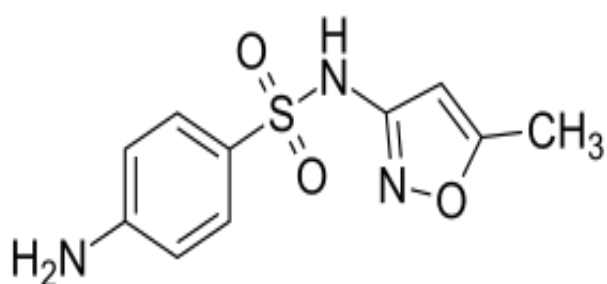


Figure 10: Structure chimique du Sulfaméthoxazole

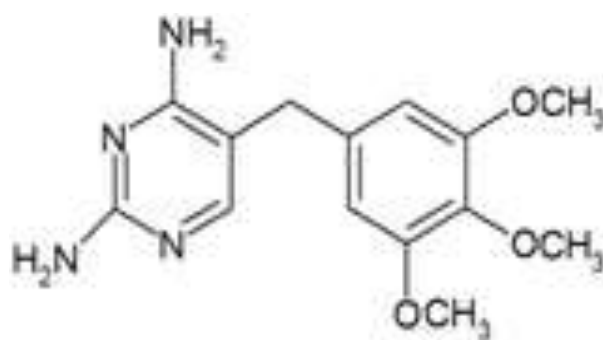


Figure 11: Structure chimique du Triméthoprime

3.6 Résistance des bactéries aux antibiotiques :

3.6.1 Définitions :

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un microorganisme (bactérie) de résister aux effets des antibiotiques. Un micro-organisme est considéré «résistant» lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [42].

En effet, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo à la suite d'un traitement [42].

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays. La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal accélère le processus entraînant une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité [43].

3.6.2 Mécanisme de résistance des bactéries aux antibiotiques :

3.6.2.1 Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

- **Exemple de résistances naturelles :**

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

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

3.6.2.2 Résistance acquise :

A côté de la résistance naturelle existe aussi des résistances acquises ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes [44].

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme [42].

3.6.2.2.1 Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale) :

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action. L'utilisation d'une association de deux ou de plusieurs antibiotiques semble pouvoir prévenir l'émergence de mutants résistants. Par exemple, la résistance à la rifampicine et aux quinolones résulte toujours d'une mutation.

3.6.2.2.2 Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale) :

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à gram positif qu'à gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides. Cette forme de résistance est

transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments. Par exemple, le *Shigella*, responsable de la diarrhée, peut transférer un plasmide avec résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents.

Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison. La transformation permet l'acquisition et l'incorporation d'ADN libre dans l'environnement (dénudé) à la suite de la mort de la bactérie mère. (Exemple : le gonocoque résistant à la pénicilline). La transduction est un mécanisme de transfert de gènes, dont le vecteur est un virus bactérien appelé bactériophage. Ce mécanisme permet le transfert d'information génétique entre bactéries appartenant essentiellement à la même espèce. Les plasmides sont souvent transférés par conjugaison. La conjugaison est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par un mécanisme complexe nécessitant un étroit contact cellulaire et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes.

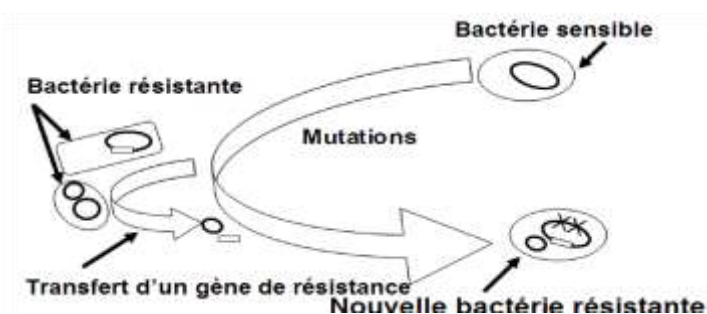


Figure 12 : Mécanisme de transmission d'un gène de résistance aux antibiotiques d'une bactérie à une autre [42].

3.6.2.2.3 Mécanisme de résistance acquise [42]:

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance aux antibiotiques :

- **Inhibition enzymatique**

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique.

- ✓ **Production de β -lactamases :**

Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace. Les

β -lactamases inactivent les β -lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame. Puisque ce sont les antibiotiques les plus prescrits au monde, il n'est pas étonnant que la résistance à cette importante classe de médicaments pose un problème inquiétant. Parmi les bactéries à gram positif, le *Staphylococcus aureus* ainsi que l'entérocoque sont les pathogènes les plus susceptibles de produire des β -lactamases transmises par des plasmides et d'hydrolyser les pénicillines ou les céphalosporines. Les bacilles à gram négatif (BGN), en particulier les entérobactéries, produisent une grande variété de β -lactamases, qui sont subdivisées en plusieurs sous-groupes. Ainsi, il existe plusieurs familles de β -lactamases, et on découvre régulièrement de nouvelles familles importantes d'enzymes.

Au début des années 1980, les céphalosporines de troisième génération (C3G) ont été commercialisées, mais à la suite de leur surutilisation pour le traitement de plusieurs infections, des changements relativement mineurs des séquences des gènes originaux ont entraîné une modification significative de l'affinité des enzymes pour le substrat, et il s'est développé un groupe de β -lactamases à spectre étendu, les BLSE.

Récemment, l'hyperproduction de céphalosporinases chromosomiques de très haut niveau a conféré également une nouvelle sorte de résistance aux C3G. Ces enzymes ne détruisent pas l'antibiotique mais inhibent l'accès à son site d'action. Elles sont synthétisées chez des espèces naturellement productrices de céphalosporinases inductibles (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*) qui, à la suite d'une mutation, en produisent en très grandes quantités. Il s'agit d'un phénotype qualifié de « hyperproduction de céphalosporinases » ou de « céphalosporinases dérégulées ».

Par surcroît, la production de carbapénémases par les BGN peut les rendre résistantes à toutes les β -lactamines, y compris les carbapénèmes.

Mentionnons qu'il existe d'autres enzymes pouvant détruire d'autres classes pharmacologiques : l'aminoglycoside (AMG) acétyltransférase, l'AMG adényltransférase ou l'AMG phosphotransférase peuvent détruire les aminosides, et l'érythromycine estérase ou le chloramphénicol acétyltransférase en sont d'autres exemples.

▪ Réduction de la perméabilité cellulaire

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires composées d'une membrane cytoplasmique qui sépare leur cytoplasme du milieu externe. Les bactéries à gram négatif sont également munies d'une enveloppe additionnelle, la paroi externe, qui sert de barrière et protège

les PLP du milieu externe. Les nutriments et les antibiotiques doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans la bactérie. Le passage se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines caniculaires nommées porines. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine. D'autre part, la résistance est spécifique quand un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénem illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux carbapénèmes. Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines. L'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de β -lactamases pour conférer une résistance à la bactérie. Il arrive à l'occasion qu'une bactérie ne devienne résistante que lorsque ces deux phénomènes se produisent simultanément. Par exemple, pour les bactéries *Enterobacter sp.* et *Serratia sp.* la résistance à l'imipénem résulte à la fois d'une modification de la perméabilité cellulaire et d'une hausse de la synthèse des β -lactamases chromosomiques.

- **Altération (ou modification) des sites de liaison**

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance :

- ✓ **Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP)**

Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à gram positif, comme le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il serait beaucoup plus rare chez les bactéries à gram négatif.

- ✓ **Altération des sites de liaison ribosomaux**

L'altération intracellulaire de la sous-unité ribosomale ciblée dans la bactérie peut atténuer les effets antibactériens des macrolides, de la clindamycine, des aminosides ou du chloramphénicol. Cette altération cause une inhabilité d'inhibition de la synthèse protéique et de la croissance bactérienne pour les antibiotiques qui ne peuvent plus se lier au site ribosomal.

✓ **Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase**

L'ADN gyrase est une enzyme nécessaire à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase IV.

✓ **Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne**

Ce phénomène peut être induit par l'utilisation de la vancomycine, comme pour l'entérocoque résistant à la vancomycine.

✓ **Altération des enzymes cibles**

Une modification de la dihydroptéroate synthétase résistante à la liaison avec les sulfamidés et de la dihydroptéroate réductase insensible au triméthoprime entraîne également une résistance.

▪ **Pompes (transporteurs) à efflux**

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne.

Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve l'*E. coli* et le *Shigella*. Le *S. aureus* peut également comporter une pompe à efflux lui permettant d'acquérir une résistance aux macrolides.

3.6.3 Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques :

Tableau VI : facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques [42].

Facteurs	Exemples (liste non exhaustive)
Emergence de la résistance	<p>Usage abusif d'antibiotiques;</p> <p>Manque de fidélité au traitement ;</p> <p>Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique ;</p> <p>Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ;</p> <p>Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.</p>
Propagation des souches résistantes	<p>Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ;</p> <p>Non-respect des directives de lutte contre les infections ;</p> <p>Promiscuité des patients hospitalisés ;</p> <p>Réduction du personnel infirmier et de soutien;</p> <p>Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ;</p> <p>Voyages internationaux.</p>
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire	<p>Animaux destinés à la consommation ;</p> <p>Agriculture et aquaculture.</p>
Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants	<p>Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons etc.</p>

3.7 Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* :

3.7.1 Résistance aux antibiotiques d'*E. coli* :

E. coli est naturellement sensible aux antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif, notamment (les Bêta-lactamines exceptées les pénicillines G et M ; les Aminosides ; les Quinolones ; les Fluoroquinolones ; les Sulfamides et Fosfomycine).

Il est encore courant d'isoler des souches sensibles à tous les antibiotiques actuellement disponibles dans les techniques d'antibiogramme adaptées aux entérobactéries.

Cependant, les souches résistantes sont fréquentes mais la résistance acquise semble assez stable. Par ailleurs, la résistance est à peu près identique que ces souches soient isolées en milieu communautaire ou à l'hôpital. Globalement, parmi les souches isolées chez l'homme dans les produits pathologiques, 30 à 50% sont résistantes à l'Ampicilline par production de β -lactamase plasmidique, 15% résistantes au Cotrimoxazole, 20% aux Sulfamides et 30% aux Tétracyclines [19]. Ces résistances sont en grande majorité d'origine plasmidique car *E. coli* peut aisément acquérir des réplicons par transfert horizontal (conjugaison). Il peut s'agir parfois de plasmides épidémiques conférant une multirésistance inhabituelle (incluant les Aminosides et les C2G, C3G).

3.7.2 Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella spp* [8] :

Les *Klebsiella* sont naturellement résistantes aux pénicillines des groupes G et A. Les souches sauvages sont sensibles aux antibiotiques actifs sur les bactéries Gram- (les Aminosides, les Fluoroquinolones, les Sulafamides, la Fosfomycine, la Colistine, les Furanes, les Céphalosporines et les Carbapénèmes). Les souches hospitalières de *K. pneumoniae* ont acquis une BLSE, codée par un plasmide, et conférant une résistance à l'ensemble des Bêta-lactamines, à l'exception des Céphamycines et de l'Imipénème. Cette BLSE est insensible à l'acide clavulanique. La fréquence de ce mécanisme de résistance varie entre 5% et 40% en fonction des centres hospitaliers. Une résistance aux Aminosides autre que la Gentamycine est également codée par ce plasmide. *K. oxytoca* peut être hyperproductrice de Bêta-lactamase chromosomique. Les souches de *K. terringa* étudiées étaient sensibles au Céfotaxime, à la Gentamycine ; à la Tobramycine, à l'Amikacine, à la Doxycycline, à la Colistine et résistantes à l'Ampicilline, à l'association Amoxicilline Acide clavulanique, au Triméthoprim et au Chloremphénicol.

4 METHODOLOGIE

4.1 Cadre d'étude

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) a constitué notre cadre d'étude. Le CICM est situé dans le quartier de l'ex- base aérienne de Bamako, rue du Docteur Charles Mérieux.

Fruit de la collaboration entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux, le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord- cadre N° 0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la Convention du 16 janvier 2005 et son Protocole annexe du 11 mai 2011 entre le Ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

- 8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali
- 15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM
- 17 janvier 2005 : Inauguration du CICM
- mai 2005 : Démarrage des activités

Le CICM comprend:

- Une administration générale.
- Un centre de formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage
- Un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) avec des activités de recherche et des activités de routine.

La présente étude s'est déroulée dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM).

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du Ministère de la Santé au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 29 agents, répartis entre les services techniques du LRM (17 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (12 agents).

Le LRM se compose des Laboratoires 1 et 2 au sein desquels les activités de recherche et de diagnostic de routine sont effectuées. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie et le Laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie).

Nos échantillons d'origine animale et environnementale ont été prélevés à plusieurs endroits du district de Bamako et environs comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau VII: Répartition des échantillons selon les lieux de prélèvements.

Types d'échantillons	Lieux de Prélèvements
Eaux de canalisations	Yirimadio, Samè, Faso Kanu, CHU du point G, CHU du Gabriel TOURE, Sabalibougou.
Eaux de puits	Yirimadio, Kati, Bolibana, Madina Coura.
Eau du fleuve	Djicoroni Para, Pont des Martyrs, Moribabougou.
Sols	Senou, Kati, Sébénicoro, Samè, Bolibana.
Fecès de Rats	Badialan II, Sabalibougou
Intestins de Poissons	Badalabougou, Niarela
Fientes de volailles	Titibougou, Baguinéda, Djicoroni Para, Sabalibougou
Mouches	Hamdallaye, Sabalibougou

4.2 Type et période d'étude

C'est une étude transversale, prospective, descriptive portant sur les souches *d'Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées des échantillons d'origine animale et environnementale, ainsi que celles isolées des prélèvements humains au LRM du 1^{er} janvier 2019 au 31 décembre 2019.

4.3 Population d'étude

Notre étude a porté sur les souches *d'Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées des sols, des eaux usées, des eaux de consommation non traitées, des fèces d'animaux, des viscères de poissons et des échantillons d'origine humaine destinés aux analyses microbiologiques de routine reçus au LRM pendant notre période d'étude.

4.3.1 Critères d'inclusion

Ont été incluses dans notre étude les souches *d'Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées des échantillons d'origine animale, environnementale et humaine au LRM.

4.3.2 Critères de non inclusion

N'ont pas été incluses dans notre étude les autres souches bactérienne isolées de l'environnement, des animaux et des échantillons d'origine humaine au LRM pendant notre étude et toute autre souche isolée en dehors de notre période.

4.4 Echantillonnage

L'étude a porté sur **284** souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées des prélèvements d'origine environnementale (eaux usées, eaux de consommation non traitées, eaux de rivière et fleuve, sols), animale (fèces et viscères) et humaine (urine, liquides, pus, sang, expectoration, sperme).

4.5 Collecte des données

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. Dans ces dossiers, on pouvait trouver des informations telles que le numéro du patient, l'âge, le sexe, la nature du prélèvement, la provenance, l'espèce bactérienne isolée ainsi que les antibiotiques testés.

Pour les prélèvements d'origine environnementale et animale, les données ont été recueillies à partir des fiches de renseignements dont les variables étaient : l'origine du prélèvement, le lieu, l'espèce bactérienne isolée et les antibiotiques testés.

4.6 Méthodes bactériologiques

4.6.1 Souches bactériennes

Les souches bactériennes faisant partie de l'étude étaient constituées uniquement des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées des animaux, de l'environnement et des prélèvements pathologiques d'origine humaine au LRM de janvier à décembre 2019.

4.6.2 Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués en fonction des sites d'infections selon qu'il s'agit des échantillons d'urines, de pus, d'expectorations, d'hémocultures, de liquides reçus au LRM.

Les échantillons d'eaux étaient collectés dans de pots stériles de 1000ml, les fèces d'animaux, les échantillons de sols, les intestins de poissons étaient reçus dans des sacs en plastiques stériles. Au laboratoire les prélèvements d'eaux étaient directement ensemercer sur milieu Uriselect4, contrairement aux échantillons solides (sols, fèces, fientes) qui étaient d'abord homogénéiser (tamisage, mise en suspension) avant la culture.

4.6.3 Examen macroscopique

Il consistait à apprécier la couleur et l'aspect des échantillons selon leur origine.

4.6.4 Examen microscopique

- **Etat frais**

Cette étape a concerné seulement les échantillons d'origine humaine reçus au LRM.

Variable selon le type de prélèvement, il consistait à rechercher les leucocytes, les cristaux, les cellules épithéliales, les hématies, les kystes et des parasites.

- **Après coloration de Gram**

Les échantillons sont fixés sur la lame et colorés au Gram pour l'observation microscopique. La coloration de Gram est la coloration de base en bactériologie et elle permet de mettre en évidence la forme (cocci) et le type (Gram positif ou négatif) de la bactérie.

- ✓ **Technique**

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succède et consiste à :

- Fixer le frottis ;
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane) ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool-acétone ;
- Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30secondes ;
- Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres;
- Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

- ✓ **Résultat de la coloration de Gram**

A la coloration de Gram :

- Bactéries Gram négatif : coloration rose
- Bactéries Gram positif : coloration violette

-Levures : forme ovale coloration violet

4.6.5 Culture

Pour les échantillons d'origine humaine la culture était effectuée sur différents milieux selon le produit pathologique en déchargeant par stries condensés, l'écouvillon de prélèvement sur toute la surface de la boîte gélosée et mis en incubation pendant 24 heures à 37°C.

Les échantillons d'origine animale et environnementale étaient directementensemencés sur le milieu Uriselect4 (milieu chromogène et colorimétrique).

- **Autres géloses solides**

-Milieu Drigalski : milieu sélectif permettant l'isolement des bactéries Gram négatif non exigeants, il permet également de faire la différence entre les espèces qui fermentent le lactose de celles qui ne le fermentent pas.

-Milieu Mueller Hinton : milieu sur lequel les antibiogrammes étaient réalisés.

- **Milieu liquide**

-Bouillon (cœur-cervelle)

4.6.6 Isolement et purification des souches

24 heures après la mise en culture des échantillons, les colonies types d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* étaient ré-isolées sur de nouveaux milieux stériles afin d'obtenir des souches pures.

4.6.7 Identification

Après ré-isolement les colonies caractéristiques faisaient l'objet d'identification à partir des tests biochimiques et métaboliques.

- **Test d'oxydase**

Le test de l'oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif phénylènediamine, pour former un composé coloré en violet, l'indophénol. L'acide ascorbique, incorporé dans le réactif, agit en tant qu'agent réducteur pour limiter l'auto-oxydation et améliorer la stabilité du réactif.

- ✓ **Technique**

- Placer le flacon compte-gouttes dans le briseur d'ampoule.
- Tapoter le fond du flacon pour éliminer les bulles qui auraient pu s'y former.
- Saisir le milieu de l'ensemble flacon/briseur et appuyer doucement pour briser l'ampoule.
- Distribuer précisément une goutte de réactif sur un disque non imprégné de diamètre 6 mm.
- Etaler la colonie sur le disque.

✓ **Résultat**

L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif.

Des réactions tardives ou l'absence de couleur indiquent un test négatif.

▪ **Galerie Api 20E**



Figure 13 : Automate mini Api. (Photo prise au LRM le 04/10/2019).

Principe :

Le système **API® BioMérieux** (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro-galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques.

Le Mini API permet deux types de lecture.

✓ **La lecture turbinéphéléométrique**

Elle est destinée aux galeries turbinéphéléométrique.

-**Turbidimétrie** : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement proportionnelle à la croissance bactérienne.

-**Néphéléométrie** : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule. Le cycle d'une lecture turbinéphéléométrique se fait en deux étapes :

1ère étape :

Entrée du chariot porte galerie et détection du code de la galerie.

2ème étape :

Mesure sous la position sans filtre puis sortie du chariot porte galerie.

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

✓ **La lecture colorimétrique**

Elle est destinée aux galeries colorimétriques.

Le Mini API effectue pour chaque cupule une mesure de transmission de la lumière dans 4 régions du spectre visible.

Le cycle d'une lecture colorimétrique se fait en 4 étapes :

1ère étape :

-1ère entrée du chariot porte galerie

-Détection du code de la galerie

-Mesure sous filtre K60

2ème étape :

-1ère sortie du chariot porte galerie

-Mesure sous filtre K40

3ème étape :

-2ème entrée du chariot porte galerie

-Mesure sous le filtre DT bleu

4ème étape :

- 2ème sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT vert
- Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

✓ **Procédure d'utilisation**

Confère (annexe).

▪ **VITEK 2 compact**

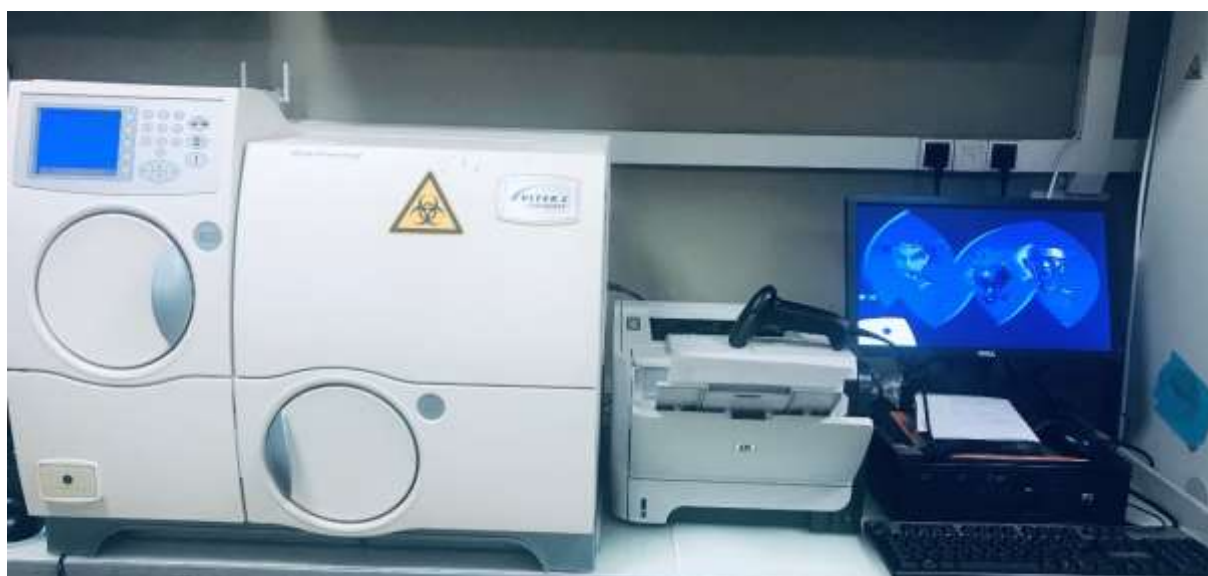


Figure 14 : Automate VITEK 2 Compact (photo prise au LRM le 04/10/2019)

Principe :

Entièrement automatisé, l'instrument permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme rapides et précis.

Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante (voir Figure 14).

✓ **Technique**

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;

-Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

-Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;

-A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;

-Homogénéiser la suspension et bien agiter au vortex ;

-A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à 0,5 McFarland ;

-Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;

-Préparer la solution pour antibiogramme :

- Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé la micropipette calibrée à 145µl (rouge) spécifique au Gram négatif.
- A partir de la suspension bactérienne, pipeter 145µl et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.

-Placer la carte d'identification GN, et la carte pour l'antibiogramme AST-N 233 Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;

-Cliquer sur Vitek 2

-Mettre Identifiant du LRM

-Cliquer sur gérer la cassette virtuelle

-Créer une cassette virtuelle

-Identification de la cassette 1,2,...

-Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette

-Saisir les données de l'isolat ;

- Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle
- Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;
- Lorsque le message retiré s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le capot chargement puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

✓ Profil biochimique sur Vitek 2 Compact

Confère (annexe).

4.6.8 Test de sensibilité aux antibiotiques : Méthodes de diffusion des disques d'antibiotiques

L'antibiogramme est l'interprétation de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique en termes d'efficacité clinique. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistante).

La technique utilisée est la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton, l'antibiogramme est interprété après mesure des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM).

▪ **Matériels et réactifs utilisés**

- Gélose Mueller-Hinton ;
- Solution saline à 0.45% ;
- Densitomètre (Mc Farland) ;
- Disques antibiotiques pour le test de sensibilité ;
- Ecouvillons en coton stériles ;
- Pipettes ;
- Tubes à hémolyse ;
- Pincés à disques ;

▪ **Les antibiotiques testés**

- Amoxicilline 25 µg ;
- Amoxicilline + Acide clavulanique 20/10 µg ;
- Tobramycine 10 µg ;
- Gentamicine 15 µg ;
- Ciprofloxacine 5 µg ;
- Ticarcilline 75 µg ;
- Cefoxitine 30 µg ;
- Ceftazidime 30 µg ;

- Acide Nalidixique 30 µg ;
- Amikacine 30 µg ;
- Meropénème ;
- Nitrofurantoine 300 µg ;
- Fosfomycine 50 µg ;
- Sulfamethoxazole + triméthoprime 1.25/23.75 µg ;
- Norfloxacin 5 µg ;
- Imipénème 10 µg ;

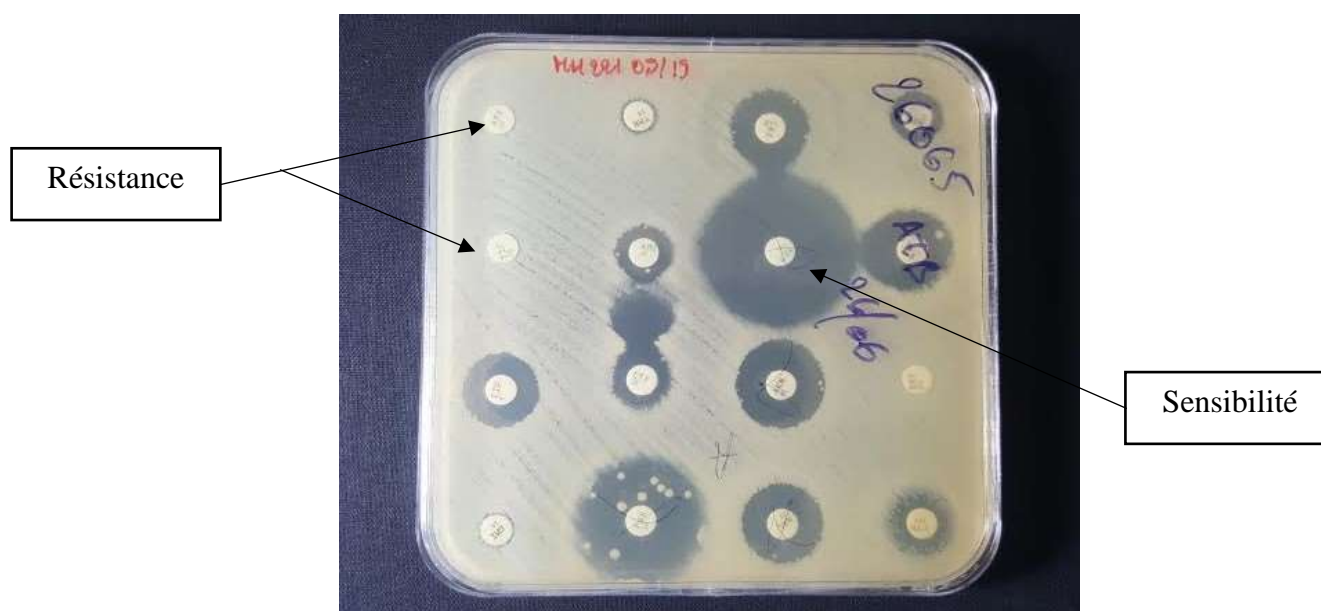


Figure 15 : Antibiogramme d'un échantillon d'hémoculture au LRM (photo prise 27/06/2019)

4.6.9 Tests de détection des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Au cours de l'antibiogramme, la production de BLSE a été mise en évidence par la recherche d'une synergie d'action entre l'association amoxicilline + acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération (CTX, CAZ) et ATM selon les techniques suivantes :

- **Principe**

Le test de synergie permet la détection de BLSE chez une souche donnée. L'action de ces enzymes peut être mise en évidence par la méthode de diffusion sur disques, consistant à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération. Cette image se manifeste en bouchon de champagne.

- **Technique**

La recherche de BLSE est faite dans les conditions standards de l'antibiogramme, en disposant les disques d'antibiotiques de la façon suivant :

Un disque d'AMC et les disques de C3G (CTX, CAZ) et l'ATM à une distance de 20 à 30mm sur les boites de pétri. Puis mettre en incubation pendant 24 heures à 37°C

- **Lecture**

La production des enzymes BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie dite bouchon de champagne entre les disques d'AMC et les C3G.

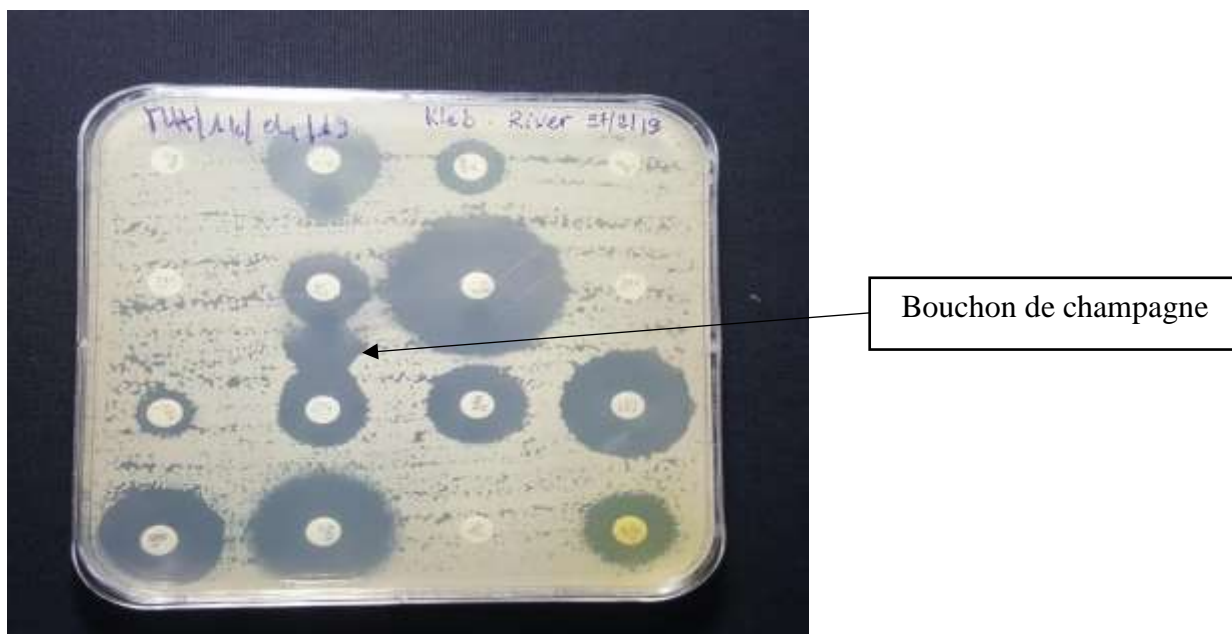


Figure 16 : Antibiogramme de *K. pneumoniae* productrice de BLSE isolée à partir d'un échantillon d'eau de rivière (photo prise au LRM 28/02/2019).

4.7 Variables étudiées

Les variables étudiées sont :

- L'origine des échantillons ;
- Le type de prélèvement ;
- Le type de germe (genres, espèces) ;
- La provenance des souches ;
- Le sexe ;
- L'âge ;
- Le profil de résistance aux ATB testés.

4.8 Considération éthique :

L'autorisation des responsables du laboratoire a été obtenue pour l'utilisation des échantillons de routine.

L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique.

Avant tout prélèvement sur les animaux (fermes, abattoir, pêcheurs...) ou dans l'environnement (jardin, sols contaminés par les déchets humains, eaux de puits...), l'autorisation était d'abord demandée aux responsables, qui donnaient leurs consentements après explication de l'étude.

L'étude avant son déroulement, a été soumise au comité d'éthique de la FMOS/FAPH.

4.9 Analyses et traitement des données

Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS version 21, Microsoft Word et Excel version 2013 et référencées par le logiciel ZOTERO 5.0.65.

5 RESULTATS

5.1 Résultats globaux :

Durant la période d'étude, **665** bactéries ont été isolées au LRM à partir de prélèvements humains, dont **217** entérobactéries soit une fréquence de **32,63%**.

Parmi les **217** entérobactéries, nous avons isolé **129** souches d'*E. coli* et **48** souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, soit respectivement **59,44%** et **22,11%** du total des entérobactéries isolées. *Escherichia coli* avait une fréquence d'isolement de **19,39%** et **7,21%** pour *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*.

Au total **40** souches d'*E. coli* et **11** souches de *Klebsiella spp* ont été isolées sur **132** prélèvements d'origine animale.

Sur **198** prélèvements effectués dans l'environnement, **30** souches d'*E. coli* et **26** souches de *Klebsiella spp* ont été isolées.

5.2 Résultats descriptifs

5.2.1 *Escherichia coli*

5.2.1.1 Répartition des 129 souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme

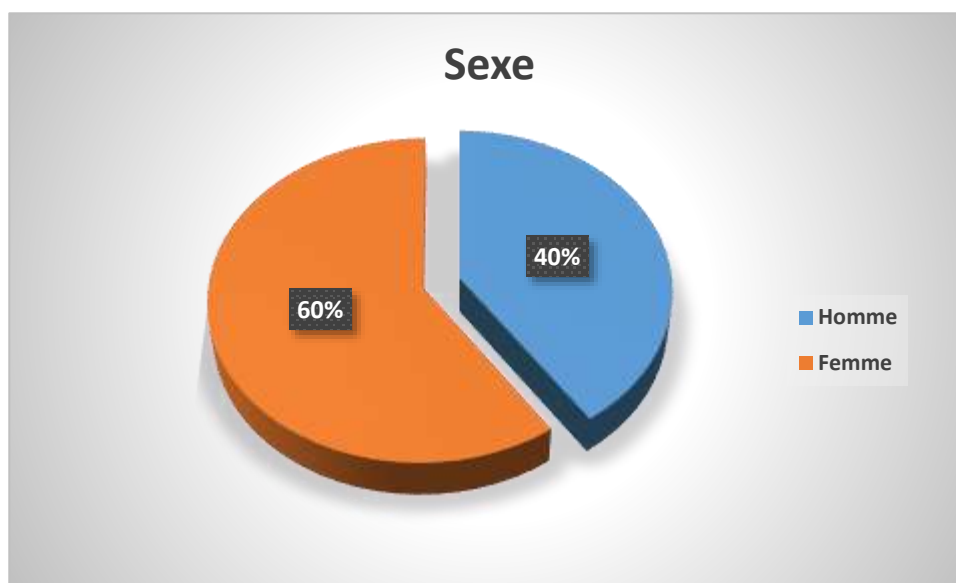


Figure 17 : Répartition des **129** souches d'*E. coli* isolées selon le sexe.

Les femmes étaient les plus représentées parmi la population de personnes infectées avec **60%**.

Le sexe ratio (F/H= 1,5).

Tableau VIII : Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon leur provenance.

Origine	Effectif	Pourcentage
Hospitalières	18	13,95
Communautaires	69	53,49
Autres	42	32,56
Total	129	100

Plus de la moitié des souches d'*E. coli* isolées des prélèvements humains au LRM provenait des structures de santé communautaire avec **53,49%**.

Tableau IX : Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon les types de prélèvements d'origine humains.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Urine	104	80,62
Sang	4	3,10
Liquide d'ascite	2	1,55
Expectoration	1	0,78
Pus	18	13,95
Total	129	100

Les souches d'*E. coli* étaient essentiellement isolées des urines avec **80,62%**, le liquide d'ascite et les expectorations étaient faiblement représentés avec un taux de **1,55%** pour le liquide d'ascite et **0,78%** pour les expectorations.

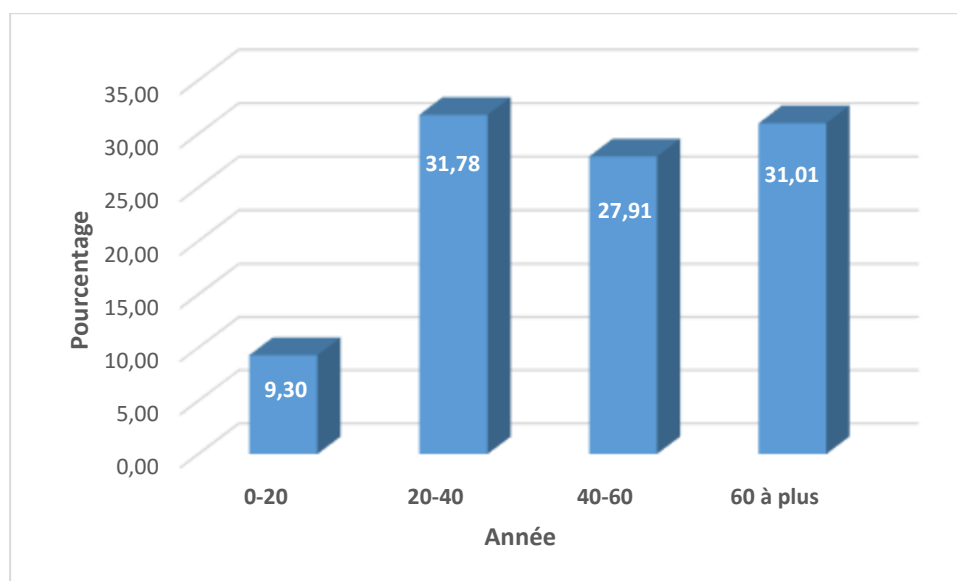


Figure 18 : Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon les tranches d'âge.

La tranche d'âge de 20-40 ans était la plus représentée avec **31,78%**. Les patients âgés de moins de 20 ans étaient faiblement représentés soit **9,30%**.

5.2.1.2 Répartition des 40 souches *E. coli* isolées chez les animaux

Tableau X : Répartition des souches *E. coli* isolées selon les types de prélèvements animaux.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Fecès de rat	4	10
Fientes de volailles	14	35
Intestins de poissons	12	30
Intestins de volailles	6	15
Mouches	4	10
Total	40	100

Les souches d'*E. coli* étaient majoritairement isolées dans les fientes des volailles (**35%**) et dans les intestins de poissons (**30%**).

5.2.1.3 Répartition des 30 souches d'*E. coli* isolées dans l'environnement

Tableau XI : Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon les types de prélèvements environnementaux.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Eaux-canalisation	13	43,33
Eaux-puits	7	23,33
Eau du fleuve	3	10,00
Sols-contaminés	2	6,67
Sols-jardins	5	16,67
Total	30	100,00

Les eaux de canalisations et de puits étaient les plus représentées avec respectivement **43,33%** et **23,33%**, les sols contaminés par les excréments humains représentaient une faible portion de **6,67%**.

5.2.2 *Klebsiella spp*

5.2.2.1 Répartition des 35 souches de *Klebsiella spp* isolées chez l'Homme

Durant notre période d'étude, 48 souches de *Klebsiella*, qui étaient toutes de l'espèce *pneumoniae subsp. pneumoniae* ont été isolées dans les produits pathologiques humains.

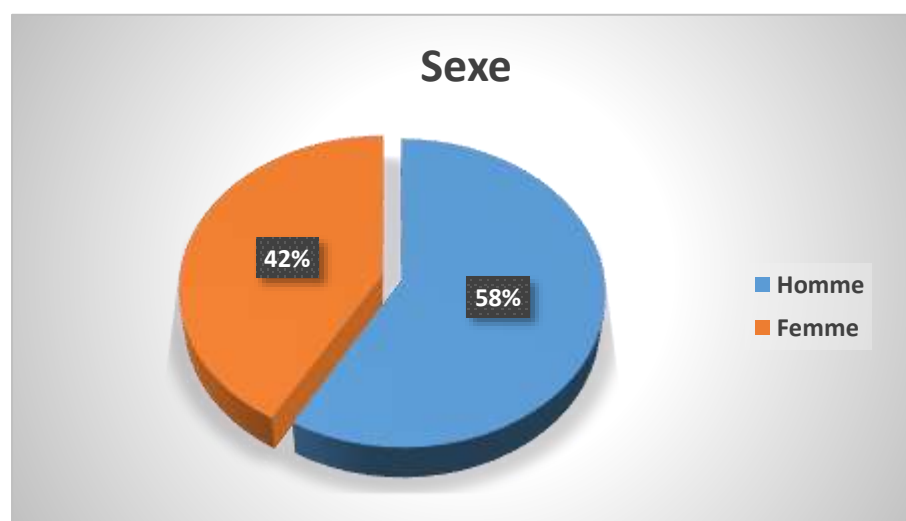


Figure 19 : Répartition des 48 souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* selon le sexe.

Les sujets masculins étaient les plus touchés par les infections à *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* avec **58%**. Le sexe ratio (F/H= 0,72)

Tableau XII : Répartition des souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* selon leur provenance.

Origine	Effectif	Pourcentage
Hospitalières	8	16,67
Communautaires	24	50,00
Autres	16	33,33
Total	48	100

Les souches étaient majoritairement isolées en milieu communautaire (50%).

Tableau XIII : Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon les types de prélèvements d'origine humaine.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Urine	23	47,92
Sang	6	12,50
Liquide d'ascite	1	2,08
Expectoration	5	10,42
Sperme	1	2,08
Pus	12	25,00
Total	48	100

Les souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* étaient beaucoup plus isolées dans les prélèvements d'urines (47,92%) suivi des prélèvements de pus (25%).

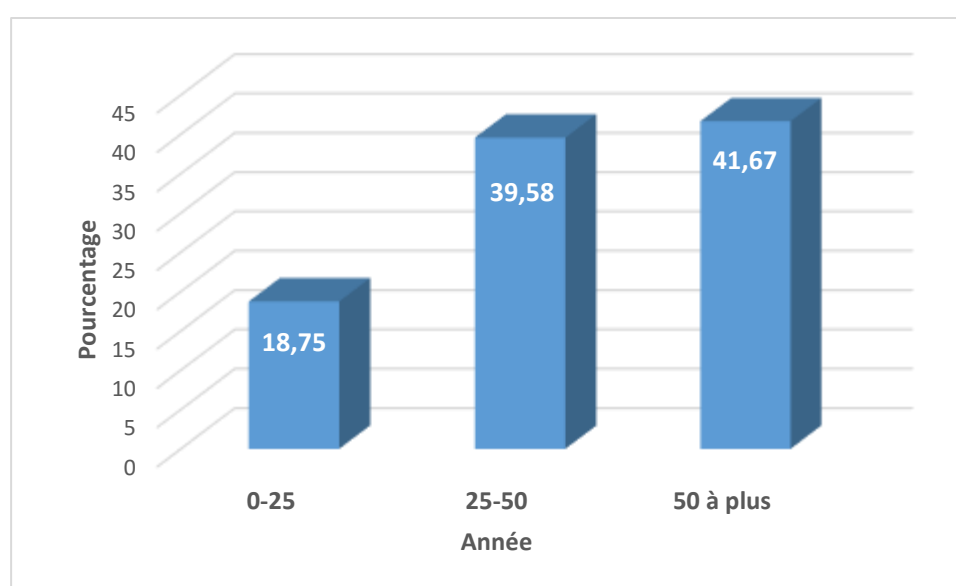


Figure 20 : Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon les tranches d'âge.

Les patients âgés de 25 à 50 ans et ceux âgés de plus de 50 ans étaient les plus touchés par les infections à *K. pneumoniae* au LRM pendant notre période d'étude, soit respectivement **39,58%** et **41,67%**.

5.2.2.2 Répartition des 11 souches *Klebsiella spp* isolées chez les animaux

Au cours de notre étude nous avons isolé des animaux, **8** souches de *K. pneumoniae subsp pneumoniae*, **2** souches de *K. pneumoniae subsp ozaenae* et **1** souche de *K. oxytoca*.

Tableau XIV : Répartition des souches de *Klebsiella spp* isolées selon les types de prélèvements animaux.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Fecès de rat	1	9,09
Fientes de volailles	3	27,27
Intestins de poissons	3	27,27
Intestins de volailles	3	27,27
Mouches	1	9,09
Total	11	100,00

Les souches de *Klebsiella spp* étaient majoritairement isolées dans les fientes et intestins de volailles et des intestins de poissons avec **27,27%** chacun.

5.2.2.3 Répartition des 26 souches de *Klebsiella spp* isolées dans l'environnement

Nous avons isolé **24** souches de *K. pneumoniae subsp pneumoniae* et **2** souches de *K. pneumoniae subsp ozaenae*.

Tableau XV : Répartition des souches de *Klebsiella spp* selon les types de prélèvements environnementaux.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Eaux-canalisation	7	26,92
Eaux-puits	6	23,08
Eau du fleuve	3	11,54
Sols-contaminés	4	15,38
Sols-jardins	6	23,08
Total	26	100,00

Les eaux de canalisations étaient les plus représentées avec **26,92%**, les eaux de puits et les sols de jardins potagers représentaient chacun **23,08%**.

5.3 Résistance aux antibiotiques des souches isolées

5.3.1 *Escherichia coli*

5.3.1.1 Résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme

Tableau XVI : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **129** souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	18 (14,06)	110 (85,94)	0 (0)	128 (100)
Amoxicilline-Acide clavuniqué	55 (42,97)	73 (57,03)	0 (0)	128 (100)
Imipénème	47 (100)	0 (0)	0 (0)	47 (100)
Cefotaxine	60 (54,05)	50 (45,05)	1 (0,90)	111 (100)
Ceftazidime	70 (55,12)	53 (41,73)	3,15	127 (100)
Ticarcilline	15 (13,04)	100 (86,96)	0 (0)	115 (100)
Aminosides				
Tobramycine	74 (57,81)	54 (42,19)	0 (0)	128 (100)
Amikacine	99 (92,52)	8 (7,48)	0 (0)	107 (100)
Gentamicine	88 (68,22)	39 (30,23)	2 (1,55)	129 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	46 (35,66)	83 (64,34)	0 (0)	129 (100)
Ciprofloxacine	56 (44,44)	69 (54,76)	1 (0,79)	126 (100)
Norfloxacine	53 (46,49)	58 (50,88)	3 (2,63)	114 (100)
Autres				
Sulfamethoxazole-Trimethoprime	15 (11,81)	112 (88,19)	0 (0)	127 (100)

N*= Effectif

Les résistances les plus élevées étaient observées contre le cotrimoxazole (**88,19%**), la ticarcilline (**86,96%**), l'amoxicilline (**85,94%**) et l'acide nalidixique (**64,34%**).

L'imipénème était l'antibiotique le plus actif (**100%**).

5.3.1.2 Résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées chez les animaux

Tableau XVII : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **40** souches d'*E. coli* isolées chez les animaux.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	21 (52,50)	19 (47,50)	0 (0)	40 (100)
Amoxicilline-Acide clavunique	37 (92,50)	3 (7,50)	0 (0)	40 (100)
Imipénème	40 (100,00)	0 (0)	0 (0)	40 (100)
Cefotaxine	40 (100)	0 (0)	0 (0)	40 (100)
Ceftazidime	39 (97,50)	1 (2,50)	0 (0)	40 (100)
Ticarcilline	21 (52,50)	18 (45)	1 (2,50)	40 (100)
Cefoxitine	39 (100)	0 (0)	0 (0)	39 (100)
Aminosides				
Tobramycine	21 (52,50)	9 (22,50)	10 (25)	40 (100)
Amikacine	27 (67,50)	3 (7,50)	10 (25)	40 (100)
Gentamicine	36 (90)	2 (5)	2 (5)	40 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	30 (75)	9 (22,50)	1 (2,50)	40 (100)
Ciprofloxacine	35 (87,50)	5 (12,50)	0 (0)	40 (100)
Norfloxacine	27 (69,23)	8 (20,51)	4 (10,26)	39 (100)
Autres				
Fosfomycine	40 (100)	0 (0)	0 (0)	40 (100)
Nitrofurantoïne	40 (100)	0 (0)	0 (0)	40 (100)
Sulfamethoxazole-Trimethoprime	21 (52,50)	19 (47,50)	0 (0)	40 (100)

Les molécules d'antibiotiques les moins actives étaient : l'amoxicilline (**47,50%**), le cotrimoxazole (**47,50%**) et la ticarcilline (**45%**). Aucune résistance n'a été observée contre l'imipénème, la cefoxitine, la fosfomycine et la nitrofurantoïne.

5.3.1.3 Résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées dans l'environnement

Tableau XVIII : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **30** souches d'*E. coli* isolées dans l'environnement.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	8 (26,67)	22 (73,33)	0 (0)	30 (100)
Amoxicilline-Acide clavunique	17 (56,67)	13 (43,33)	0 (0)	30 (100)
Imipénème	30 (100)	0 (0)	0 (0)	30 (100)
Cefotaxine	24 (80)	6 (20)	0 (0)	30 (100)
Ceftazidime	25 (83,33)	5 (16,67)	0 (0)	30 (100)
Ticarcilline	13 (54,17)	11 (45,83)	0 (0)	24 (100)
Cefoxitine	22 (100)	0 (0)	0 (0)	22 (100)
Aminosides				
Tobramycine	11 (36,67)	13 (43,33)	6 (20)	30 (100)
Amikacine	23 (76,67)	3 (10)	4 (13,33)	30 (100)
Gentamicine	27 (90)	2 (6,67)	1 (3,33)	30 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	17 (56,67)	11 (36,67)	2 (6,67)	30 (100)
Ciprofloxacine	22 (73,33)	7 (23,33)	1 (3,33)	30 (100)
Norfloxacine	20 (66,67)	10 (33,33)	0 (0)	30 (100)
Autres				
Fosfomycine	28 (93,33)	2 (6,67)	0 (0)	30 (100)
Nitrofurantoïne	28 (93,33)	2 (6,67)	0 (0)	30 (100)
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	19 (63,33)	11 (36,67)	0 (0)	30 (100)

Les résistances les plus élevées ont été observées vis-à-vis de : l'amoxicilline (**73,33%**), la ticarcilline (**45,83%**), l'amoxicilline-acide clavulanique (**43,33%**) et la tobramycine (**43,33%**). L'imipénème et la cefotaxine étaient tous actifs (**100%**).

5.3.2 *Klebsiella spp*

5.3.2.1 Résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez l'Homme

Tableau XIX : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **48** souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez l'Homme.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	0 (0)	48 (100)	0 (0)	48 (100)
Amoxicilline-Acide clavunique	19 (39,58)	29 (60,42)	0 (0)	48 (100)
Imipénème	22 (95,45)	1 (4,55)	0 (0)	22 (100)
Cefotaxine	17 (47,22)	19 (52,78)	0 (0)	36 (100)
Ceftazidime	25 (52,08)	23 (47,92)	0 (0)	48 (100)
Ticarcilline	0 (0)	48 (100)	0 (0)	48 (100)
Aminosides				
Tobramycine	30 (62,50)	18 (37,50)	0 (0)	48 (100)
Amikacine	38 (95)	2 (5)	0 (0)	40 (100)
Gentamicine	34 (70,83)	14 (29,17)	0 (0)	48 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	38 (80,85)	9 (19,15)	0 (0)	47 (100)
Ciprofloxacine	27 (56,25)	21 (43,75)	0 (0)	48 (100)
Norfloxacine	25 (55,56)	20 (44,44)	0 (0)	45 (100)
Autres				
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	17 (36,17)	30 (63,83)	0 (0)	47 (100)

Les souches de *K. pneumoniae* présentaient des taux de résistances vis-à-vis du cotrimoxazole (**63,83%**), de l'amoxicilline-acide clavulanique (**60,42%**), de la cefotaxine (**52,78%**) et de la ceftazidime (**47,92%**).

Un taux de résistance de **4,55%** a été observé à l'imipénème.

(*K. pneumoniae* est naturellement résistante à l'amoxicilline et à la ticarcilline = contrôle)

5.3.2.2 Résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella spp* isolées chez les animaux

Tableau XX : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **11** souches de *Klebsiella spp* isolées chez les animaux.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	0 (0)	11 (100)	0 (0)	11 (100)
Amoxicilline-Acide clavunique	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Imipénème	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Cefotaxine	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Ceftazidime	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Ticarcilline	0 (0)	11 (100)	0 (0)	11 (100)
Cefoxitine	11 (100)	0 (0)	0 (0)	10 (100)
Aminosides				
Tobramycine	10 (90,91)	0 (0)	1 (9,09)	11 (100)
Amikacine	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Gentamicine	10 (90,91)	1 (9,09)	0 (0)	11 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	10 (90,91)	1 (9,09)	0 (0)	11 (100)
Ciprofloxacine	9 (81,82)	2 (18,18)	0 (0)	11 (100)
Norfloxacine	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Autres				
Fosfomycine	7 (63,64)	4 (36,36)	0 (0)	11 (100)
Nitrofurantoïne	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	5 (45,45)	6 (54,55)	0 (0)	11 (100)

L'amoxicilline et à la ticarcilline étaient toutes inactives (**100%**), un taux de résistance élevé a été observé au cotrimoxazole (**54,55%**).

5.3.2.3 Résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella spp* isolées dans l'environnement

Tableau XXI : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des **26** souches de *Klebsiella spp* isolées dans l'environnement.

Antibiotique	Sensible N(%)	Résistant N(%)	Intermédiaire N(%)	Effectif N(%)
Bêta-lactamines				
Amoxicilline	0 (0)	26 (100)	0 (0)	26 (100)
Amoxicilline-Acide clavunique	15 (57,69)	11 (42,31)	0 (0)	26 (100)
Imipénème	26 (100)	0 (0)	0 (0)	26 (100)
Cefotaxine	21 (80,77)	5 (19,23)	0 (0)	26 (100)
Ceftazidime	22 (84,62)	4 (15,38)	0 (0)	26 (100)
Ticarcilline	0 (0)	23 (100)	0 (0)	23 (100)
Cefoxitine	18 (81,82)	4 (18,18)	0 (0)	22 (100)
Aminosides				
Tobramycine	18 (69,23)	5 (19,23)	3 (11,54)	26 (100)
Amikacine	25 (96,15)	1 (3,85)	0 (0)	26 (100)
Gentamicine	24 (92,31)	2 (7,69)	0 (0)	26 (100)
Quinolones				
Acide-Nalidixique	23 (88,46)	2 (7,69)	1 (3,85)	26 (100)
Ciprofloxacine	22 (88)	2 (8)	1 (4)	25 (100)
Norfloxacine	23 (88,46)	3 (11,54)	0 (0)	26 (100)
Autres				
Fosfomycine	20 (76,93)	6 (23,07)	0 (0)	26 (100)
Nitrofurantoïne	23 (88,46)	2 (7,69)	1 (3,85)	26 (100)
Sulfaméthoxazole-Triméthoprime	19 (73,08)	7 (26,92)	0 (0)	26 (100)

L'association amoxicilline acide clavulanique était l'antibiotique le moins actif (**42,31%**) après l'amoxicilline et la ticarcilline (**100%**).

5.4 Résultats analytiques

5.4.1 Fréquence de résistances aux antibiotiques des souches d'*E. coli* aux différentes familles d'antibiotiques testées dans les différents secteurs.

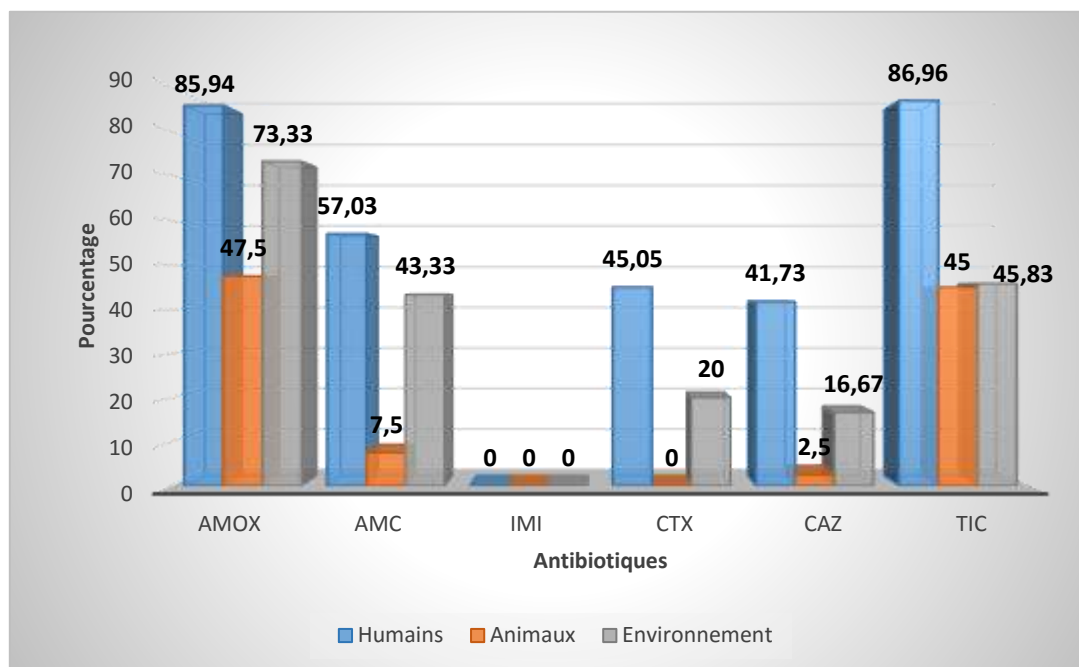


Figure 21 : Fréquence des souches d'*E. coli* résistantes aux Bêta-lactamines selon leur origine. Parmi toutes les bêta-lactamines testées, l'amoxicilline était l'antibiotique le moins actif avec des taux de résistance de : **85,94%** chez les humains, **47,50%** chez les animaux et **73,33%** dans l'environnement.

L'imipénème était actif sur toutes les souches d'*E. coli* isolées.

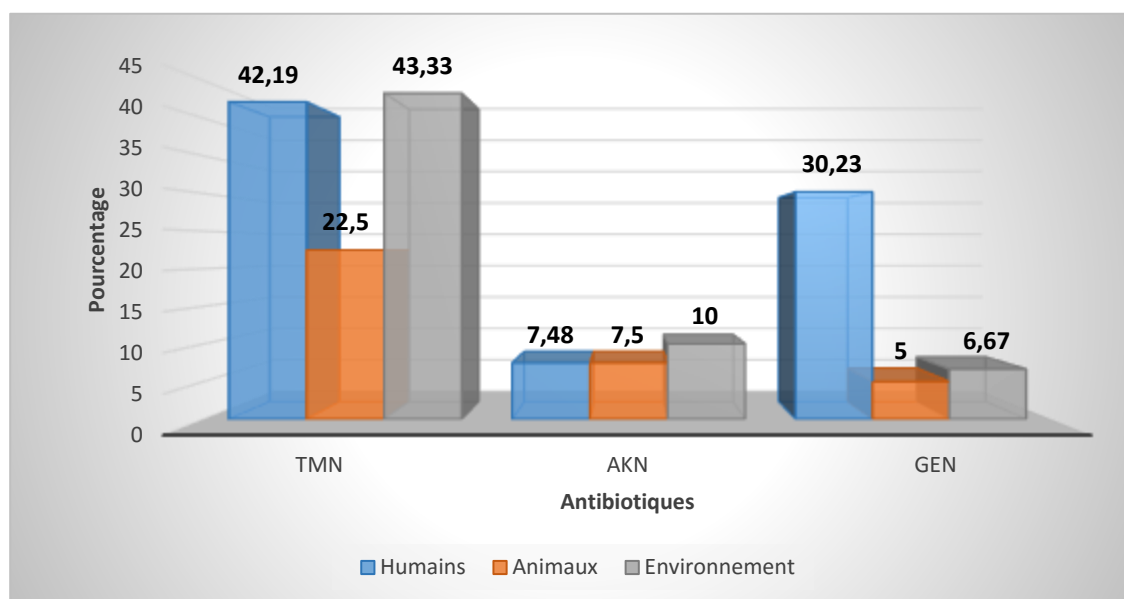


Figure 22 : Fréquence des souches d'*E. coli* résistantes aux Aminosides selon leur origine. La tobramycine était l'Aminoside la moins active avec des taux de résistances de : **42,19%** chez l'Homme, **22,50%** chez les animaux et **43,33%** dans l'environnement.

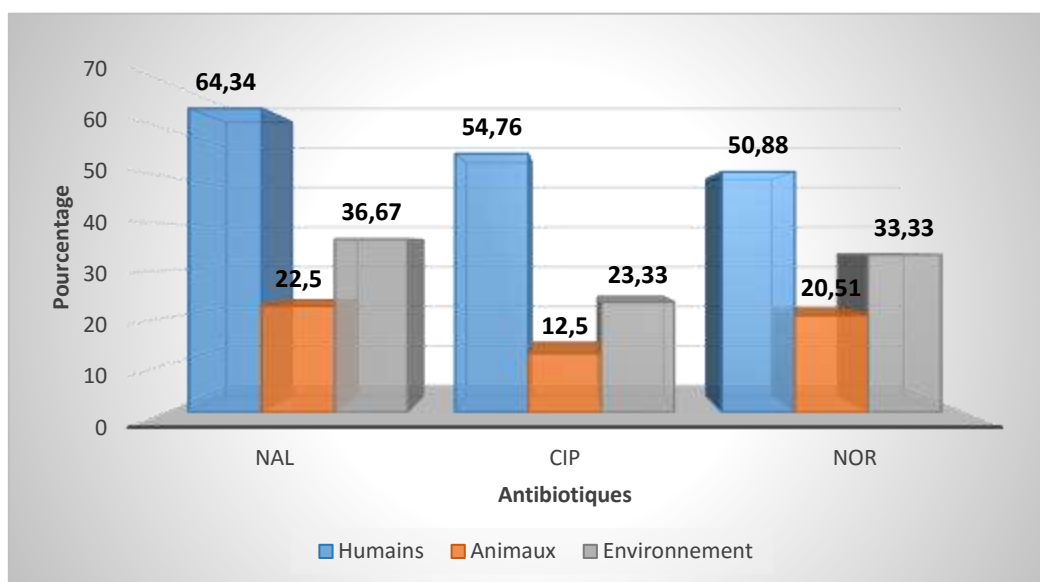


Figure 23 : Fréquence des souches d'*E. coli* résistantes aux Quinolones selon leur origine. Les souches d'*E. coli* isolées du secteur humains étaient plus résistantes aux quinolones que celles isolées des autres secteurs.

5.4.2 Fréquence de résistances aux antibiotiques des souches de *Klebsiella spp* aux différentes familles d'antibiotiques testées.

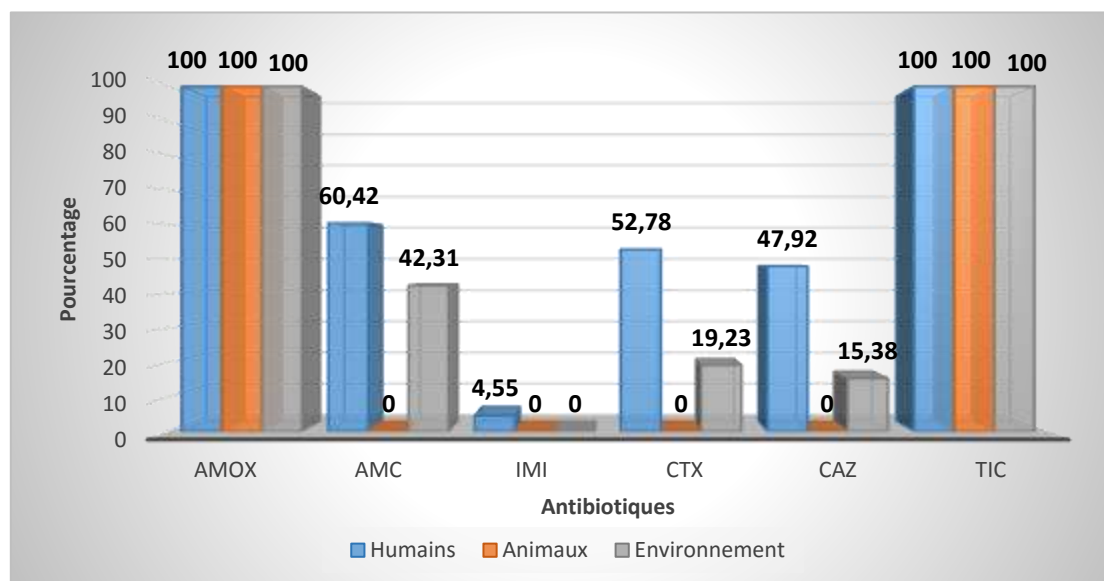


Figure 24 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux Bêta-lactamines selon leur origine.

La résistance aux Bêta-lactamines était plus élevée chez les humains.

Un faible taux de résistance de **4,55%** à l'imipénème a été observé parmi les souches de *Klebsiella spp* isolées chez les humains contrairement aux autres secteurs où toutes les souches étaient sensibles.

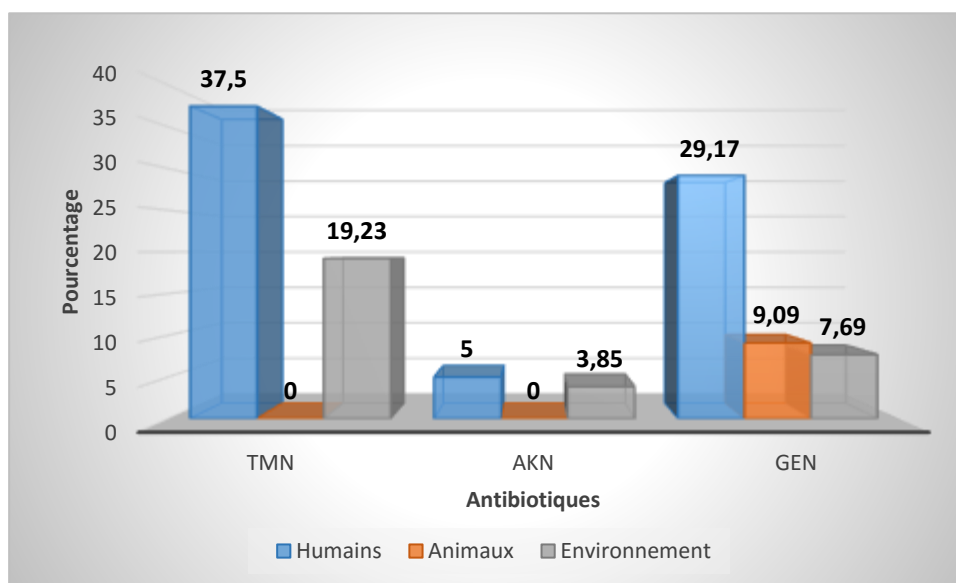


Figure 25 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux Aminosides selon leur origine.

Des taux de résistances vis-à-vis de la gentamicine ont été observés dans les trois secteurs : **29,17%** chez les humains, **9,09%** chez les animaux et **7,69%** dans l'environnement.

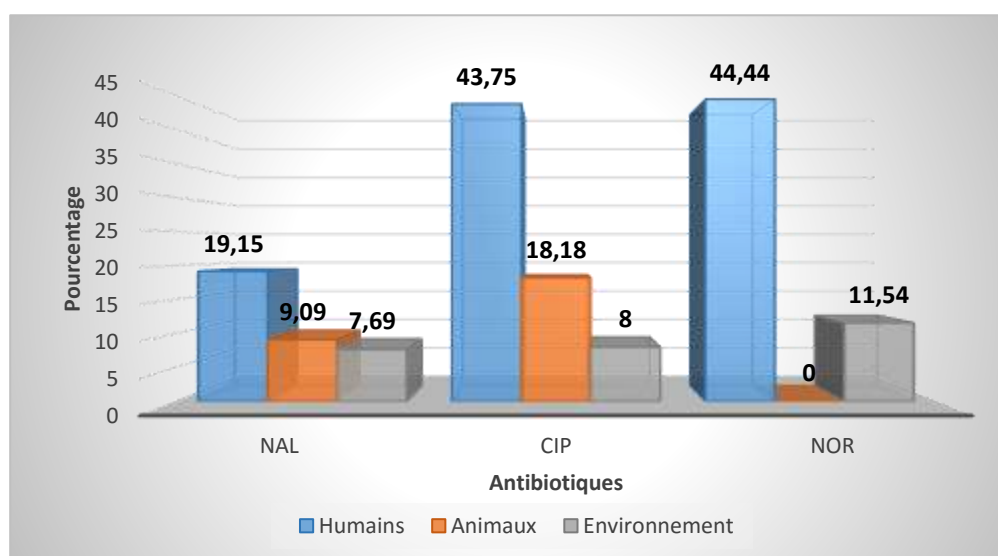


Figure 26 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux Quinolones selon leur origine.

Les souches de *Klebsiella spp* isolées du secteur humain présentaient des taux de résistances vis-à-vis de la norfloxacine (**44,44%**) et de la ciprofloxacine (**43,75%**).

5.4.3 Fréquence de résistances des souches d'*E. coli* et de *Klebsiella spp* isolées des trois secteurs aux différentes familles d'antibiotiques testées.

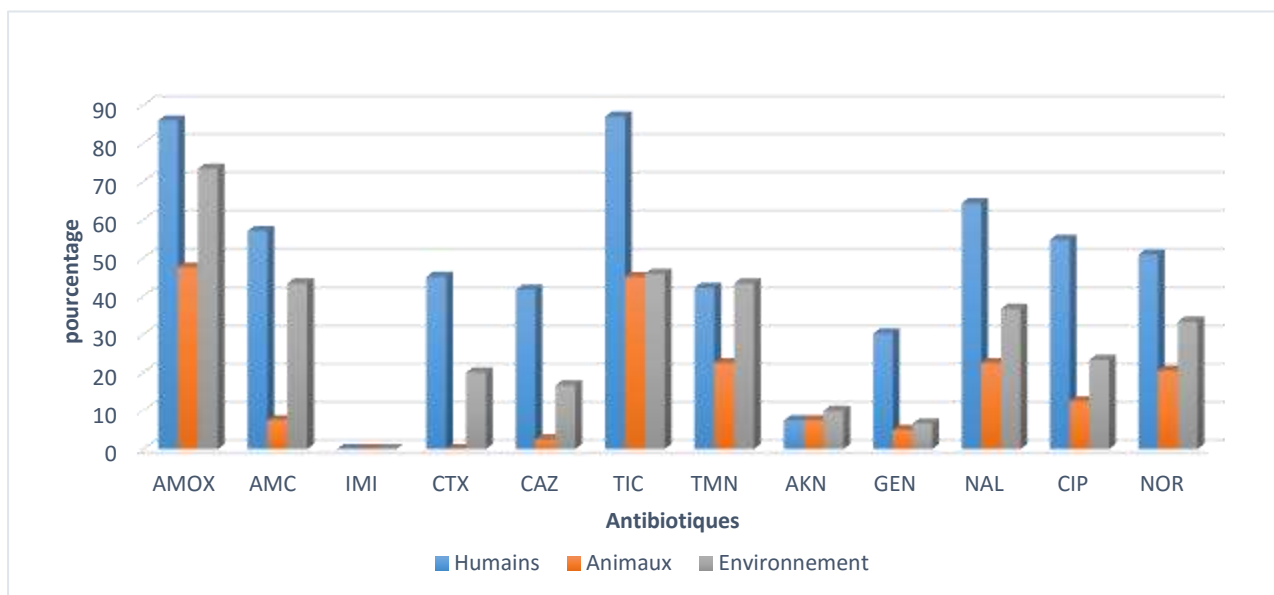


Figure 27 : Fréquence des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques selon leur origine.

Le secteur humain présentait plus de résistances que les deux autres secteurs.

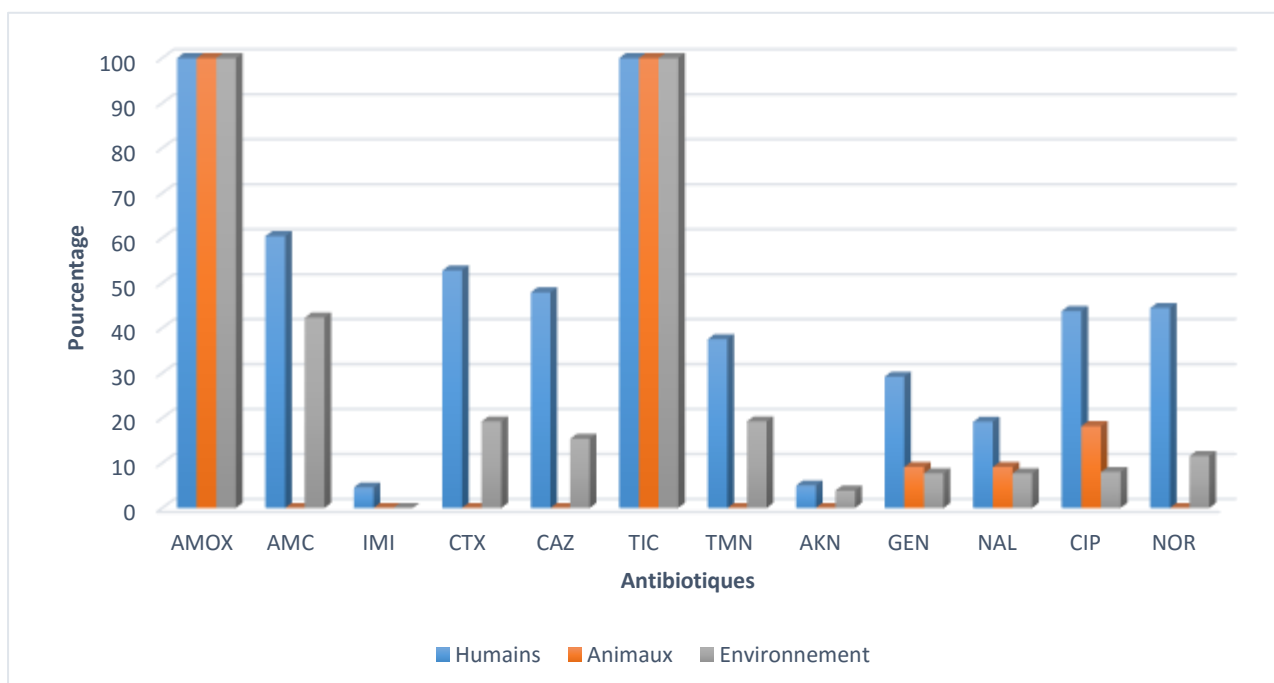


Figure 28 : Fréquence des souches de *Klebsiella spp* résistantes aux antibiotiques selon leur origine.

L'analyse de cette figure nous montre que la résistance aux ATB était élevée chez les humains que dans les autres secteurs.

5.5 Fréquence des Bactéries multirésistantes et celles productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu isolées chez les humains au LRM

Tableau XXII : Fréquence d'*E. coli* multirésistantes et productrices de BLSE isolées chez l'Homme

<i>E. coli</i>	Effectif	Pourcentage
BMR	72	55,81
BLSE	32	24,81
Sensible	25	19,38
Total	129	100

Au total **55,81%** des souches d'*E. coli* étaient des BMR et **24,81%** produisaient des BLSE.

Tableau XXIII : Phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées chez les humains.

Phénotype de résistance aux antibiotiques	Effectif (%)	Total <i>E. coli</i>
STX ^R , AMOX ^R , TIC ^R , NAL ^R , AMC ^R , CIP ^R , NOR ^R , TMN ^R , CAZ ^R , CTX ^R , GEN ^R , AKN ^R	7 (5,43)	129
STX ^R , AMOX ^R , TIC ^R , NAL ^R , AMC ^R , CIP ^R , NOR ^R , TMN ^R , CAZ ^R , CTX ^R , GEN ^R	25 (19,38)	129
STX ^R , AMOX ^R , TIC ^R , NAL ^R , AMC ^R , NOR ^R , CIP ^R , TMN ^R	9 (6,98)	129
STX ^R , AMOX ^R , TIC ^R , AMC ^R	10 (7,75)	129
STX ^R , AMOX ^R , TIC ^R	14 (10,85)	129

Sur la totalité des souches d'*E. coli* isolées, **25** souches soit **19,38%** résistaient à presque tous les ATB testés sauf à l'amikacine et à l'imipénème et **7** souches soit **5,43%** présentaient des résistances à tous les ATB testés sauf à l'imipénème.

Nous avons observé des cas de résistances isolées.

Tableau XXIV : Fréquence de *K. pneumoniae subsp pneumoniae* multirésistantes et productrices de BLSE isolées chez l'Homme

<i>K. pneumoniae</i>	Effectif	Pourcentage
BMR	22	45,83
BLSE	14	29,17
Sensible	12	25,00
Total	48	100

Les *K. pneumoniae* BMR et productrices de BLSE représentaient respectivement **45,83%** et **29,17%**.

Tableau XXV : Phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches *K. pneumoniae* isolées chez les humains

Phénotype de résistance aux antibiotiques	Effectif (%)	Total <i>K. pneumoniae</i>
AMOX^R, TIC^R, STX^R, AMC^R, CTX^R, CAZ^R, CIP^R, NOR^R, TMN^R, GEN^R, NAL^R, AKN^R, IMI^R	1 (2,08)	48
AMOX^R, TIC^R, STX^R, AMC^R, CTX^R, CAZ^R, CIP^R, NOR^R, TMN^R, GEN^R, NAL^R	4 (8,33)	48
AMOX ^R , TIC ^R , STX ^R , AMC ^R , CTX ^R , CAZ ^R , CIP ^R , NOR ^R , TMN ^R , GEN ^R	4 (8,33)	48
AMOX ^R , TIC ^R , STX ^R , AMC ^R , CTX ^R , CAZ ^R	2 (4,17)	48
AMOX ^R , TIC ^R , STX ^R , AMC ^R	4 (8,33)	48
AMOX ^R , TIC ^R , STX ^R	3 (6,25)	48

Sur les **48** souches de *K. pneumoniae*, **4** souches (**8,33%**) résistaient à toutes les molécules d'ATB testées sauf à l'amikacine et à l'imipénème. La souche de *K. pneumoniae* (**2,08%**) ayant résisté à l'imipénème résistait également à l'ensemble des ATB testés.

5.6 Fréquence des bactéries multirésistantes et celles productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu isolées chez les animaux et dans l'environnement

Parmi toutes les souches d'*E. coli* et *Klebsiella* isolées chez les animaux et dans l'environnement, seulement une souche de *K. pneumoniae* était productrice de BLSE, soit **3,84%**. Cette souche avait été isolée d'une rivière drainant les eaux usées du centre de santé communautaire de Yirimakio.

6 DISCUSSION

6.1 Méthodologie

Nous avons effectué cette étude afin de caractériser les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement. Nous avons choisi comme méthodologie de rechercher ces souches chez les patients du LRM, chez des animaux de certains élevages et dans certains environnements comme les eaux usées, les sols et les eaux de puits. Nous avons fait ce choix en fonction d'un certain nombre de paramètres notamment la facilité d'accès aux souches des patients au CICM, la proximité des sites environnementaux aux structures de soins et la disponibilité des éleveurs à recevoir notre équipe. Ceci pose le problème de représentativité de nos échantillons d'étude. Par ailleurs des difficultés liées à la rupture de stock des disques d'antibiotiques n'ont pas permis de tester l'ensemble des souches pour tous les antibiotiques.

6.2 Fréquences d'isolement d'*E. coli* et de *Klebsiella spp*

Nous avons isolé **129** souches d'*E. coli* et **48** souches de *K. pneumoniae* à partir des produits pathologiques humains (urines, sang, liquide d'ascite, pus, expectoration et sperme), soit respectivement **59,44%** et **22,11%** de l'ensemble des entérobactéries isolées.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **DAFFE M. [45]** en 2018 : qui a rapporté une fréquence de **53,24%** pour *E. coli* et **18,3%** pour *K. pneumoniae* sur **370** entérobactéries isolées

Nous avons isolé à partir de **132** échantillons d'excréments d'origine animale, **40** souches d'*E. coli* et **11** souches de *Klebsiella spp*. L'isolement d'*E. coli* n'a pu être possible que pour **30,30%** des échantillons prélevés, ce pourcentage est relativement bas sachant que *E. coli* est une bactérie commensale dont la culture est presque toujours positive à partir d'excréments d'animaux.

Ce taux d'isolement d'*E. coli* est inférieur à celui rapporté par **BRISSEON [46]** à Lyon en 2018 : des souches d'*E. coli* ont été retrouvées sur **86** échantillons parmi **137 (62,77%)**.

Ont été isolées de l'environnement, **30** souches d'*E. coli* et **26** souches de *Klebsiella spp* à partir de **198** échantillons d'eaux de canalisations, d'eaux de puits, d'eaux du fleuve, les sols de jardin potager et les sols contaminés par les déchets humains.

Ces faibles taux d'isolement pourraient s'expliquer par la méthodologie utilisée : après isolement des colonies roses (types *E. coli*) et bleues (types *Klebsiella*) sur la gélose Uriselect, seulement **10%** de ces colonies types étaient identifiées au VITEC® pour savoir s'il s'agissait

bien d'*E. coli* et *Klebsiella*. Idéalement, il aurait fallu tester l'ensemble des colonies au VITEC®, mais pour des raisons de coût, il a été décidé de restreindre le nombre de colonies à identifier.

6.2.1 Infections à *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*

Durant notre étude *E. coli* était majoritairement isolée chez les femmes avec un taux de **60%**.

DEMBELE M. [47] en 2006 au CHU Gabriel TOURE, a rapporté que **53%** des patients présentant une infection à *E. coli* étaient des femmes.

Nous avons observé une prédominance d'isolement de *K. pneumoniae* chez les patients de sexe masculin (**58%**).

Ce résultat est comparable à ceux obtenus par :

- **DIALLO K. [48]** en 2010 au CHU du Gabriel TOURE : **58,14%** pour le sexe masculin.
- **DAFFE M. [45]**, a rapporté que les infections à *K. pneumoniae* étaient beaucoup plus fréquentes chez les hommes (**61,76%**).

6.2.2 Fréquence d'isolement des germes selon leur provenance

La majorité de nos souches était communautaire, soit **53,49%** pour *E. coli* et **50%** pour *K. pneumoniae*. Cela s'explique par le fait que la majorité de nos patients venait en ambulatoire.

Des résultats similaires ont été obtenus par :

- **DEMBELE A. [49]** en 2018 au CICM, qui a trouvé **57,86%** d' *E. coli* d'origine communautaire.
- **DAFFE M. [45]** en 2018 au CICM : **64,71%** de *K. pneumoniae* communautaires.

6.2.3 Fréquence d'isolement des germes selon les types de prélèvement

Les souches d'*E. coli* et *K. pneumoniae* ont été isolées principalement dans les échantillons d'urines au cours de notre étude, soit respectivement **80,62%** et **47,92%**. Ceci s'explique par la forte implication de ces germes dans les infections urinaires[7]. En effet plusieurs études ont indiqué la prédominance des souches d'*E. coli* dans les infections urinaires :

- **ZITTI T. [50]** en 2014 a rapporté une prédominance d'*E. coli* (**61,80%**), suivi de *K. pneumoniae* (**14,20%**) dans les infections urinaires à Bamako.

- **DIALLO A. [17]** en 2009 au CHU du Point G a rapporté que **60,50%** des souches d'*E. coli* étaient impliquées dans les infections urinaires.

6.2.4 Infections à *E. coli* et *K. pneumoniae* selon les tranches d'âges

Durant notre période d'étude, la classe d'âge la plus touchée par les infections à *E. coli* était celle de 20 à 40 ans (**31,78%**).

GUEUDET T. [51] en 2005 a trouvé chez les patients âgés de 15 à 40 ans, un taux d'isolement de **60,5%** (*E. coli*).

Nous avons observé que les patients âgés de 20 à 50 ans et ceux âgés de plus de 50 ans étaient les plus touchés par les infections à *K. pneumoniae*, soit respectivement **39,58%** et **41,67%**.

DAFFE M. [45] rapporte que **45,57%** des patients qui avaient des infections à *K. pneumoniae* étaient âgés de 25 à 65 ans.

6.2.5 Isolement des germes chez les animaux

Au cours de notre étude des souches d'*E. coli* et *K. pneumoniae* ont été isolées des fèces de volailles, de rats, de poissons et de broyats de mouches. Ces germes sont en effet des commensaux du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux[8].

6.2.6 Isolement des germes dans l'environnement

Pendant notre étude, nous avons isolé de l'environnement des souches d'*E. coli* et *Klebsiella spp* à partir des prélèvements d'eaux de canalisations, de puits et du fleuve ainsi que des prélèvements de sols contaminés par les déchets humains et de terre des jardins potagers. Ces résultats confirment le caractère ubiquitaire de ces deux germes.

6.3 Niveaux de résistance aux antibiotiques des souches d' *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*

6.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez l'Homme

Les souches d'*E. coli* isolées chez les humains au cours de notre étude avaient des taux de résistances élevés au cotrimoxazole (**88,19%**), à la ticarcilline (**86,96%**), à l'amoxicilline (**85,94%**) et à l'acide nalidixique (**64,34%**).

Ces forts taux de résistances sont comparables à ceux obtenus par **DEMBELE A. [49]** en 2018 : **85,35%** pour le cotrimoxazole, **84,37%** pour la ticarcilline, **84,97%** pour l'amoxicilline et **69,89%** pour l'acide nalidixique.

L'association amoxicilline-acide clavulanique avait un taux de résistance de **57,03%** suivi de la ciprofloxacine (**54,76%**) et la norfloxacine (**50,88%**).

ZITTI T. [50] en 2014 a observé un taux de résistance de **63,40%** pour l'association amoxicilline-acide clavulanique et la ciprofloxacine chacune.

Ce constat est alarmant et il doit nous inciter à l'utilisation rationnelle des antibiotiques en médecine humaine.

L'imipénème a montré une très bonne activité sur l'ensemble des souches d'*E. coli* isolées chez les humains (**100%**). Cela se traduit par le fait que cet antibiotique coûte excessivement cher et il est prescrit de manière rationnelle. Les forts taux de résistances observés au cotrimoxazole, à l'amoxicilline et à l'amoxicilline-acide clavulanique s'expliquent par la vente libre de ces ATB sur le marché et leurs coûts relativement bas.

Parmi toutes les souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme, **24,81%** produisaient des BLSE.

TIMBINE L. [52] en 2014 rapporte que **22,5%** des souches d'*E. coli* testées aux ATB produisaient des BLSE.

Toutes les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées ont été résistantes à l'amoxicilline et à la ticarcilline. Ce résultat n'est pas du tout étonnant puisque *Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante aux pénicillines du groupe A et aux carboxypénicillines [8].

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les humains ont présenté des taux de résistances élevés vis-à-vis : du cotrimoxazole (**63,83%**), de l'amoxicilline-acide clavulanique (**60,42%**) et la céfotaxime (**52,78%**).

ZITTI T. [50] a trouvé des taux des résistances plus élevés : cotrimaxazole (**80%**), amoxicilline-acide clavulanique (**66.7%**), céfotaxime (**70%**).

NOURI et al [53] en 2015 en Algérie, ont rapporté des taux résistances à l'amoxicilline-acide clavulanique (60%), à la céfotaxime (36,66%) et au cotrimoxazole (43,33%).

Nous avons observé un très faible taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* à l'imipénème (**4,55%**). Ce résultat concorde avec celui de **DAFFE M. [45]** au LRM en 2018 : un taux de résistance de **1,47%** à l'imipénème.

Cette situation est d'autant plus préoccupante, car les carpanèmes sont considérés comme les ATB de dernier recours pour le traitement des infections causées par des bactéries Gram

négatifs multi résistantes. Et d'année en année, nous assistons à l'émergence de ces souches dangereuses qui peuvent créer l'impasse thérapeutique.

Au cours de notre étude, **29,17%** des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les humains étaient productrices de BLSE. Ce résultat est inférieur à celui obtenu par **SAYE T. [54]** en 2006 au CHU du Point G : **36,9%** des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE.

6.3.2 Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez les animaux.

Nos souches d'*E. coli* isolées chez les animaux ont présenté des taux de résistances de l'ordre de **47,50%** pour l'amoxicilline et cotrimoxazole, de **45%** pour la ticarcilline. Ce qui peut être expliqué par l'utilisation abusive des ATB dans nos élevages.

Une étude réalisée par **Kilani Hajer et al [55]** en Tunisie en 2016 sur **107** souches d'*E. coli* d'origine animale a rapporté un taux de résistance de **57,75%** pour l'amoxicilline et **50,86%** pour le cotrimoxazole.

Le taux de résistance de nos souches d'*E. coli* à l'acide nalidixique était de l'ordre de **22,50%**. Ce qui ne concorde pas avec les résultats de **Kilani Hajer et al [55]** qui avaient trouvés **37,93%** des souches d'*E. coli* qui résistaient à l'acide nalidixique.

Les souches de *Klebsiella spp* isolées chez les animaux ont montré un taux de résistance de **54,55%** au cotrimoxazole.

L'association amoxicilline-acide clavulanique, l'imipénème, la cefotaxime, la ceftazidime, la cefoxitine, l'amikacine, la norfloxacine et la nitrofurantoïne ont toutes montré de bonnes activités vis-à-vis des souches de *Klebsiella spp* isolées chez les animaux (**100%**).

6.3.3 Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées dans l'environnement

Dans l'environnement, nos souches d'*E. coli* isolées présentaient des taux de résistances suivants : **73,33%** pour l'amoxicilline, **45,83%** pour la ticarcilline, **43,33%** pour l'amoxicilline-acide clavulanique et tobramycine et **36,67%** pour le cotrimoxazole.

Une étude réalisée au Nigéria en 2019 par **Abimbola et al [56]** sur 58 souches d'*E. coli* isolées des eaux usées emmenant des hôpitaux rapporte que sur l'ensemble des souches testées aux ATB, **57%** ont montré une résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique et **55%** au cotrimoxazole.

La plupart des molécules d'antibiotiques testées sur nos souches de *Kebsiella spp* isolées de l'environnement était active. L'association amoxicilline-acide clavulanique était la moins active (**42,31%**) après l'amoxicilline et la ticarcilline (**100%**).

Par contre **Tatiane et al [57]** en 2017 ont trouvé des taux de résistances élevés chez les souches de *K. pneumoniae* isolées des eaux de canalisations urbaines vis-à-vis de : l'amoxicilline-acide clavulanique, la cefotaxime, la ceftazidime et la ciprofloxacine.

6.4 Profils des souches d'*E. coli* et de *Klebsiella spp* multi résistantes

Nous avons constaté plus de résistances chez les souches humaines que celles des animaux et de l'environnement. Cela peut s'expliquer par l'utilisation irrationnelle des ATB dans le secteur de la santé humaine notamment l'automédication, l'inobservance thérapeutique et la prise quotidienne d'ATB.

Parmi les Bêta-lactamines testées sur l'ensemble des souches, l'amoxicilline, la ticarciline et l'amoxicilline-acide clavulanique étaient les molécules les moins actives. La tobramycine était l'Aminoside la moins active (les trois secteurs).

Nous déplorons de forts taux de résistances des Quinolones aux souches bactériennes isolées chez les humains durant notre étude. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **DAFFE M. [45]** et **DEMBELE A. [49]** en 2018 au LRM.

A l'horizon il serait intéressant de passer à la biologie moléculaire, plus précisément au séquençage des gènes de résistances pour mieux élucider le flux de gènes entre les humains, les animaux et l'environnement.

7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Les souches d'*E. coli* et de *Klebsiella spp* isolées chez les humains, les animaux et de l'environnement présentaient des niveaux élevés de résistance à plusieurs familles d'ATB : Bêta-lactamines, Aminosides et Quinolones.

Ces souches présentaient une bonne sensibilité à l'imipénème, à la fosfomycine et à la nitrofurantoïne.

Nous avons isolé essentiellement chez l'Homme des souches multirésistantes qui résistaient à la quasi-totalité des molécules d'antibiotiques testées. La fréquence des souches d'*E. coli* et de *K. Pneumoniae* multi-résistantes est une menace pour les populations car, elles sont responsables d'infections difficiles à traiter et conduisent à une impasse thérapeutique.

RECOMMANDATIONS

❖ Aux autorités :

- Adopter des politiques de restrictions sur l'utilisation des antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire ;
- Adopter des politiques d'utilisation rationnelle des antibiotiques dans le secteur de la santé humaine ;
- Sensibiliser la population et les professionnelles de la santé sur les dangers liés à l'utilisation irrationnelle des antibiotiques ;
- Mettre en place une surveillance épidémiologique de la résistance des bactéries aux antibiotiques à l'échelle du pays.

❖ Aux chercheurs :

- Poursuivre cette étude en l'élargissant aux autres régions ;
- Aller à la biologie moléculaire pour la mise évidence des gènes de résistances.

REFERENCES

1. Sheu C-C, Chang Y-T, Lin S-Y, Chen Y-H, Hsueh P-R. Infections Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: An Update on Therapeutic Options. *Frontiers In Microbiology*. 2019, 10(8):1-13.
2. Z.David M, Dryden M, Dryden M, Pierre Tattevin. Recently approved antibacterials for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and other Gram-positive pathogens: the shock of the new. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2017, 50(3):303-307.
3. Cassandra Willyard. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*. 2017, 543(7643):15.
4. Jim O'neill. Tackling drug-resistant infections globally. *Review on Antimicrobial Resistance*. 2016, 13:1057-98p.
5. Kleinkauf N, Hausemann A, Kempf VA, Gottschalk R, Heudorf U. Burden of carbapenem-resistant organisms in the Frankfurt/Main Metropolitan Area in Germany 2012/2013 – first results and experiences after the introduction of legally mandated reporting. *BMC Infectious Diseases*. 2014, 14:446.
6. Boehme S, Werner G, Klare I, Reissbrodt R, Witte W. Occurrence of antibiotic-resistant enterobacteria in agricultural foodstuffs. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2004, 48(7):522-531.
7. Nauciel C, Vildé J-L. *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Paris: MASSON; 2007. 121-126p.
8. Jean Freney, François Renaud, Willy Hansen, Claude Bollet. *Précis de bactériologie clinique*. Eska. Paris: Editions Alexandre Lacassagne; 2000. 1116-1173p.
9. Infection bactérienne [Internet]. *Journal de Santé*. [cited 2019 Aug 5]. Available from: santé-médecine.journal-santé.fr
10. Bacteria : définition et explications [Internet]. [cited 2019 Aug 5]. Available from: <https://www.techno-science.net/>
11. Ishige T, Honda K, Shimizu S. Whole organism biocatalysis. *Curr Opin Biol*. 2005, 9(2):174-80.
12. Kenneth Todar. *The Normal Bacterial Flora of Humans*. [cited 2019 Aug 5]; Available from: <http://www.textbookofbacteriology.net>
13. Futura. Le nombre de cellules dans le corps humain [Internet]. [cited 2019 Aug 5]. Available from: www.futura-sciences.com
14. Faculté de Médecine Sorbone Paris. *Bactériologie* [Internet]. [cited 2019 Sep 11]. Available from: www.chups.jussieu.fr
15. Les entérobactéries [Internet]. [cited 2019 Aug 30]. Available from: <http://www.microbes-edu.org>

16. Nauciel C, Vildé J-L. Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris: MASSON; 2007. 121-126p.
17. Aminata Dalla Sissoko. Sensibilité et évolution de la résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques au Centre Hospitalier et Universitaire du Point G 2005 à 2007. Thèse Bamako: Université de Bamako; 2009, 09P62. 14-15p.
18. Mahamat A, Daurès JP, Sotto A. Évaluation de la relation consommation de fluoroquinolones et émergence de résistance chez *Escherichia coli* : rôles respectif et comparatif des études observationnelles et quasi expérimentales. Médecine et Maladie Infectieuse. 2005, 35(11):543-548.
19. Jean FRENEY, François Renaud, Willy Hansen, Claude Bollet. Précis de bactériologie clinique. Eska. Paris: Editions Alexandre Lacassagne; 2000. 1116-1173p.
20. P.A.D. GRIMONT. Taxonomie des *Escherichia*. Médecine et Maladie Infectieuse. 1997, 17(1):6-10.
21. Denis F, Ploy M, Martin C, Bingen E, Roland Quentin. BACTERIOLOGIE MEDICALE techniques usuelles. Paris: MASSON; 2007. 302-322p.
22. *Escherichia coli* vu au microscope après coloration de Gram [Internet]. [cited 2019 Sep 9]. Available from: www.google.com
23. Canada A de la santé publique du. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – *Escherichia coli*, enterotoxigenic [Internet]. [cited 2019 Sep 10]. Available from: www.canada.ca/fr/santé-publique
24. Bio-Rad. *E. coli* sur le milieu Uriselect [Internet]. [cited 2019 Sep 10]. Available from: www.google.com
25. DIASSANA Abraham. Identification des souches d'*Escherichia coli* dans les selles en rapport avec la malnutrition à Dioro. Thèse Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2018, 18P75. 8-9p.
26. Tagajdid MR, Boumhil L, Iken M, Adnaoui M, Benouda A. Étude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. Médecine et Maladie Infectieuse. 2010, 40(2):70-73.
27. Robbins JB, McCracken GH, Gotschlich EC, Ørskov F, Ørskov I, Hanson LA. *Escherichia coli* K1 Capsular Polysaccharide Associated with Neonatal Meningitis. N Engl J Med. 1974, 290(22):1216-20.
28. Pradel N, Champs CD, Palcoux JB, Sirot J, Forestier C, Joly B, Scheutz F, Livrelli V. Les infections à *Escherichia coli* producteurs de vérotoxines: étude de la prévalence chez l'enfant dans la région Auvergne. Archives de Pédiatrie. 2000, 7(3):554-550.
29. Coeffic, T., Thibaut, S., Birgand, Gabriel, Boutoille, D., Caillon, Jocelyne. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires en milieu communautaire et en EHPAD non adossé à un établissement sanitaire. Médecine et Maladie Infectieuse. 2018, 49(4):47-48.

30. Dembele A. Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches d'*Escherichia coli* isolées au laboratoire Rodolphe Mérieux de 2016 à 2017 à Bamako/Mali. Thèse Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2018, 18P64. 60-68p.
31. *Klebsiella pneumoniae* [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from: <https://www.britannica.com/science/Klebsiella>
32. Canada A de la santé publique du. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – *Klebsiella spp*. [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire>
33. Bio-Rad. *Klebsiella* [Internet]. [cited 2019 Sep 19]. Available from: [//www.bacterio.cict.fr/bacdico/kk/klebsiella](http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/kk/klebsiella)
34. Olivia Beaudoux. Epidémiologie et caractérisation moléculaire des souches de *Klebsiella oxytoca* en 2006-2007 au CHU de Nantes. Thèse Université de Nantes; 2007, 160. 18p.
35. Shankar-Sinha S, Valencia GA, Janes BK, Rosenberg JK, Whitfield C, Bender RA, Standiford TJ, Younger JG. The *Klebsiella pneumoniae* O Antigen Contributes to Bacteremia and Lethality during Murine Pneumonia. *Infect Immun*. 2004, 72(3):1423-1430.
36. Follador R, Heinz E, Wyres KL, Ellington MJ, Kowarik M, Holt KE, Thomson NR. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb Genom*. 2016, 2(8):73.
37. Bagley ST. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 1985, 6(2):52-58.
38. Prof A. Philippon. Cours de bactériologie générale [Internet]. 1975 [cited 2019 Sep 23]. Available from: <http://www.microbes-edu.org/etudiant/antibio1.html>
39. D. Mohammedi. Classification et mode d'action des antibiotiques [Internet]. Available from: www.sante.dz/aarn/classification.
40. Syllabus-antibiotiques-antifongiques-2009.[Internet]. [cited 2020 Jul 24]. Available from: <https://www.farm.ucl.ac.be/FARM2233>.
41. Tableau des antibiotiques [Internet]. [cited 2019 Sep 23]. Available from: www.antibio-responsable.fr
42. Carle S. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. 2009, 42(2):6-19.
43. OMS. Résistance aux antibiotiques [Internet]. [cited 2019 Sep 26]. Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/>
44. Lozniewski A., Rabaud C., Nancy. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES-Infections associées aux soins. CclinSE. 2010.

45. Fatoumata Mariam Daffe. Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au Laboratoire Rodolphe Mérieux de 2016 à 2017. These Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2018, 18P62. 47-52p.
46. Lucie BRISSON. Apprivoisement de l'hôte et domestication de sa flore commensale : antibioresistance des *E. coli* isolées des fèces d'animaux sauvages captifs et non captifs. Thèse Lyon: Université-Claude Bernard-Lyon 1; 2018, 33. 81p.
47. Dembele Makandian. Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* au laboratoire de l'HGT de février 2002 à Décembre 2004. Thèse Bamako: Université de Bamako; 2006, 06P78. 66p.
48. Kone Koumba Diallo. Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Touré de 2002 à 2007. Thèse Bamako : Université de Bamako; 2010, 10P51. 60p.
49. Dembele Aminata. Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches d'*Escherichia coli* isolées au Laboratoire Rodolphe Mérieux de 2016 à 2017 à Bamako/Mali. Thèse Bamako: Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako; 2018, 18P64. 60-68p.
50. Tony Jonan Zardelon Zitti. Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires dans le Laboratoire Rodolphe Merieux de Bamako. These Bamako: Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako; 2014, 14P16. 37-48p.
51. T. Gueudet. Infections urinaires: existe-t-il une spécificité de la personne âgée vivant en institution?. Feuillet de Biologie. 2005, 48(276):23-25p.
52. Lassina Gadi TIMBINE. Etude des marqueurs moléculaires de la résistance aux antibiotiques des bactéries entériques isolées en Afrique de l'Ouest (Burkina Faso, Mali, Sénégal). Thèse Dakar: UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR; 2014, 105. 66p.
53. NOURI Manel, ZIADI CHIBANE Fatma. Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*. [Algérie]: Université des Frères Mentouri Constantine; 2015, 62. 38p.
54. Tenoussé SAYE. Prévalences des enterobacteries productrices de BLSE au niveau du C.H.U du Point G. Thèse Bamako: UNIVERSITE DE BAMAKO; 2012, 12p25. 43p.
55. Kilani Hajer, Abbassi Mohamed Salah, Dhifalli Rim. Caractérisation de souches d'*Escherichia coli* multirésistantes aux antibiotiques d'origine animale. Archives ouvertes. 2016, 93(2):93.
56. Abimbola O. Adekanmbi, Adedoyin O. Adeyemi, Oreoluwa M. Olajide. Occurrence of multidrug resistant and extended spectrum β -lactamase (ESBL) - producing *Escherichia coli* in wastewater of two healthcare facilities in Ibadan, Nigeria. PSJD. 2019, 26(19):167-175.

57. Nascimento T, Cantamessa R, Melo L, Fernandes MR, Fraga E, Dropa M, Sato MIZ, Cerdeira L, Lincopan N. International high-risk clones of *Klebsiella pneumoniae* KPC-2/CC258 and *Escherichia coli* CTX-M-15/CC10 in urban lake waters. MONASH University. 2017, 598:910-915.

ANNEXES

Annexe 1: MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU VITEK 2 COMPACT

Rédigé le:	22/02/2013	Par : Sandrine	S	Visa :
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:	25/03/2016	Par : Dr Bréhima TRAORE	BT	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :	25/03/2017	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	Visa :
Approuvé le:	25/03/2017	Par : Dr Madiné TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application :	25/04/2016			Version N° 1
Date de revue :	25/03/2018			
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
- Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux Réf. P10 HYG- 002 V1

MO:

D:

E:

I – Buts

Décrire le mode d'utilisation du Vitek 2 Compact.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cet appareil.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe

Mérieux **IV – Références**

Manuel d'utilisation du Vitek 2 Compact

V – Contenu

MODE OPERATOIRE D'UTILISATION DU VITEK 2 COMPACT

1. Principe

Entièrement automatisé, l'instrument permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme rapides et précis.

Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante.

Le logiciel fourni par le système Vitek 2 Compact inclut des programmes d'analyses, de gestion de données et un système de contrôle de qualité afin de valider le kit test du Vitek 2 Compact.

2. Mode opératoire

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;
- A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
- A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à **0,5 McFarland** ;
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;

- Préparer la solution pour antibiogramme :
 - Si la bactérie à identifier est à :

Gram positif, utiliser la micropipette calibrée à 280µl (bleue), Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge) ;

- A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté (BGN ou BGP) et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.
- Placer la carte d'identification (soit GN, soit GP ou YST) et la carte pour l'antibiogramme (soit AST- N, soit SST- P ou AST- Y) en fonction de la nature du germe sur la cassette.

NB : différentes cartes utilisables :

- Streptocoques et entérocoques : ID : GP 67, réf 22226 ; ATB : AST-P 586, réf 22276 o Staphylocoques: ID GP: réf 21342. ATB : AST-P 580, réf 22233
- ID GN : réf 21341 ; ATB : non entérobactéries : AST- 222, réf 413083 ; entérobactéries : AST-N 233, réf 413117 o Levures : ID : YST, réf 21343 ; ATB : AST-YS01, réf 22108
- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ; o Cliquer sur Vitek 2
 - Mettre Identifiant : **labsuper**, le mot de passe : **labsuper** o Cliquer sur gérer la cassette virtuelle o Créer une cassette virtuelle o Identification de la cassette 1,2,...
 - Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette o Saisir les données de l'isolat ;
 - Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle
- Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche **Lancer remplissage**, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;

- Lorsque le message **retiré** s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant **le capot chargement** puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

3. Résultats

Le Vitek 2 Compact est un appareil qui permet d'identifier les germes et de réaliser l'antibiogramme puis d'interpréter les phénotypes de résistances acquise et naturelle puis la sensibilité naturelle du germe.

Exemple : les bêtalactamases des entérobactéries (*Klebsiella*, *E. coli*), *S.aureus* résistant à méthicyline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipenème...et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

4. Gestion des déchets

- **Retrait des cartes éjectées :**

Pour éjecter une carte, le Vitek 2 Compact la retire du carrousel/incubateur, la présente au lecteur de cartes et la dépose dans le récipient collecteur de déchets. Le réceptacle collecteur de déchet peut contenir jusqu'à 60 cartes, il est recommandé de contrôler régulièrement le niveau du réceptacle collecteur de déchet et le vider.

- **Retrait du réceptacle collecteur de déchet :**

- Ouvrir le capot du récipient collecteur de déchets. Noter que les cartes usagées sont stockées à l'intérieur du réceptacle ;
- Retirer le réceptacle collecteur de déchet de la station de travail en tirant sur le bord avant, vers soi ;
- Jeter les cartes usagées dans la poubelle de déchets contaminés ;
- Remettre en place le réceptacle collecteur de déchets en le faisant glisser vers l'intérieur ;
- Fermer le capot du récipient collecteur de déchets.

Le Vitek 2 Compact réinitialise le compteur de déchets si le réceptacle est entièrement vidé.

Annexe 2 : MODE OPERATOIRE D'UTILISATION DU MINI API

Rédigé le:	22/02/2013	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	Visa :
Vérifié le:	14/03/2016	Par : Judicaël OUEDRAOGA	JO	Visa :
Approuvé le:	14/03/2016	Par : Dr Madine TALL TOURE	MTT	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :	14/03/2017	Par : Judicaël OUEDRAOGA	JO	Visa :
Approuvé le:	14/03/2017	Par : Dr Madine TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application :	14/04/2016			Version N° 1
Date de revue :	14/03/2018			
Objet de la modification:	Révision annuelle			
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
- Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM

MODE:

I – Buts

Décrire l'utilisation en routine du Mini Api.

II - Domaines et personnel concerné

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cet appareil.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

V – Contenu

MODE OPERATOIRE D'UTILISATION DU MINI API

1. Principe

Le système **API® BioMérieux** (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro-galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques.

Le Mini API permet deux types de lecture.

1.1. La lecture turbidimétrique

Elle est destinée aux galeries turbidimétrique.

Exemple :

ID 32 GN

ID 32 C

ATB UR

Turbidimétrie : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Néphélométrie : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule. Le cycle d'une lecture turbidimétrique se fait en deux étapes :

1ère étape :

Entrée du chariot porte galerie et détection du code de la galerie

2ème étape :

Mesure sous la position sans filtre puis sortie du chariot porte galerie

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

1.2. La lecture colorimétrique

Elle est destinée aux galeries colorimétriques.

Exemple:

ID 32 STAPH

ID 32 E

Rapid ID 32 A

Rapid ID 32 STREP

Le Mini API effectue pour chaque cupule une mesure de transmission de la lumière dans 4 régions du spectre visible.

Le cycle d'une lecture colorimétrique se fait en 4 étapes :

1ère étape :

- 1ère entrée du chariot porte galerie
- Détection du code de la galerie
- Mesure sous filtre K60
- 1ère sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous filtre K40

2ème étape :

- 2ème entrée du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT bleu
- 2ème sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT vert

- Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

2. Mise en route

Il faut :

Mettre le Mini API sous tension en appuyant sur l'interrupteur d'alimentation (marche/arrêt) à l'arrière de l'appareil.

A la mise sous tension, la configuration interne du système est testée (identification du microprocesseur, taille de la mémoire).

Deux signaux sonores retentissent. Le Mini API a effectué avec succès les tests internes. L'écran affiche brièvement la page de présentation du logiciel Mini API puis le menu principal apparaît.

3. Procédure d'utilisation

3.1. Description du logiciel

Le logiciel Mini API est composé de 6 modules :

SAISIE

Ce module permet à l'utilisateur de créer les dossiers patients gérés par le Mini API. Un dossier patient est identifié par une référence unique. L'examen d'un dossier patient contient les informations relatives à un prélèvement.

Les résultats d'identification et d'antibiogramme concernant un prélèvement sont affectés d'un numéro d'ordre géré automatiquement.

L'examen d'un dossier patient peut contenir jusqu'à 5 germes.

CONSULT.

Ce module permet de visualiser les données patientes et de vérifier l'examen et les résultats associés.

COMM.

Ce module permet l'échange d'information entre le Mini API et le système informatique du laboratoire.

EXPERT.

Ce module intègre la gestion d'un système EXPERT permettant l'interprétation des résultats bruts des antibiogrammes enregistrés. **OUTILS.**

Ce module regroupe tous les utilitaires du logiciel : Création et Mise à jour des Thésaurus, Sauvegarde/ Restauration / Extraction, Destruction des données.

Api /ATB.

Ce module permet d'effectuer des lectures de galeries d'identification ou d'antibiogramme sans créer un dossier patient et d'examen associé. Les résultats pour l'identification et l'antibiogramme ne sont pas enregistrés. Les résultats de l'antibiogramme ne sont pas expertisés.

3.1. Réalisation d'un test

Avant d'effectuer la lecture des galeries, il faut :

1ère étape :

- Mettre en marche Mini API.
- Attendre au moins 15 minutes (préchauffage) avant de commencer la lecture des galeries.
- Création d'un dossier patient. **2ème étape :**
- Préparation des galeries pour la lecture.
- Enlever le couvercle des galeries.
- Ajouter les réactifs nécessaires pour la révélation de certains tests (se reporter à la notice d'utilisation des galeries). **3ème étape :**

- Tirer l'arceau de protection. **Attention :**

Il est impératif de tirer complètement l'arceau de protection pour procéder à la sortie du chariot porte galerie.

L'arceau de protection délimite la surface pour le libre déplacement du chariot porte galerie.

Il ne doit pas être utilisé comme poignet pour déplacer l'instrument.

Ne rien poser sur l'arceau de protection lorsque celui-ci est tiré.

La sortie du chariot porte galerie est effectuée automatiquement par le logiciel Mini API au moment de la lecture automatique des galeries.

Important :

Ne pas toucher le chariot porte galerie durant le mouvement de celui-ci.

4ème étape :

- Positionner la galerie sur le chariot porte galerie **5ème étape : lecture des galeries :**
- La lecture des galeries est déclenchée par le logiciel Mini API
- La lecture des galeries est automatique
- Le code de la galerie est lu et les résultats interprétés générant ainsi le traitement de la galerie correspondante: lecture turbinéphéléométrique ou colorimétrique.

4. Arrêt du Mini Api

Lorsque le menu principal de mini Api est affiché, sortir de l'application

- Appuyer sur <SUPPR>
- Eteindre l'appareil

- Rentrer l'arceau de protection

5. Gestion des documents

Type de document	Contenant	Lieu	Durée de conservation
Document qualité	Classeur Assurance qualité Mini Api	Laboratoire Bactériologie	3 ans après la fin de leur utilisation
Traçabilité AQ	Fiche de vie Mini Api	Laboratoire Bactériologie	Pendant la durée de vie de l'appareil et 3 ans après
Document fabricant	Manuel d'utilisation et Manuel Instrument Mini Api	Laboratoire Bactériologie	Pendant la durée de vie de l'appareil et 3 ans après

Annexe 3 : MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM

Rédigé le:	25/02/2005	Par : Al Hadji SIDIBE	AS	Visa :
Vérifié le:	25/02/2005	Par : Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	02/03/2005	Par : Fatou Traoré FAYE	FTF	Visa :
Modifié le:	21/02/2013	Par : Tony ZITTI	TZ	Visa :
Vérifié le :	25/03/2016	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Approuvé le:	25/04/2016	Par : Dr Madiné TALL TOURE		Visa :
Mise en application :	25/05/2016			Version N° 2
Date de revue :	25/04/2017			
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
 - Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

I – Buts

Décrire le mode opératoire de la technique de coloration de Gram.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

V – Contenu

VI

MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM

1. Principe

C'est la coloration de base en bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Elle est l'une des caractères essentiels de la classification des bactéries. Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

- La différence de composition chimique de bactéries ;
- La différence de perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool-acétone.

2. Matériel

- Microscope ;
- Blouse ;
- Bac de coloration ;
- Plaque chauffante ; Bec bunsen ; Centrifugeuse.

3. Consommable

- Gants ;
- Lames
porte objet
; Tube
conique ;
 Pipette
pasteur.

4. Réactif

- Colorants : violet de gentiane, le lugol, l'alcool-acétone, la fuchsine.
- L'huile d'immersion.

5. Nature du prélèvement

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame

6. Contrôle de qualité

Les lames positives (frottis préparés avec une souche de bactérie connue) sont conservées et utilisées comme lames de référence

7. Technique

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succède et consiste à :

- Fixer le frottis ;
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane) ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool-acétone ;
- Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30secondes ;
- Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres ;
□ Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

8. Résultat

A la coloration de Gram :

- Bactéries Gram négatif : coloration rose
- Bactéries Gram positif : coloration violette
- Levures : forme ovale coloration violet

Annexe 4: MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE L'OXYDASE

Rédigé le:	25/02/2005	Par : Al Hadji SIDIBE	AS	Visa :
Vérifié le:	25/02/2005	Par : Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	28/02/2005	Par : Fatou Traoré FAYE	FTF	Visa :
Modifié le:	21/02/2013	Par : Fatoumata MAIGA	FM	Visa :
Vérifié le :	21/04/2016	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	Visa :
Approuvé le:	21/04/2016	Par : Dr Madiné TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application le :	21/05/2016	Par :		Version N° 2
Date de revue :	21/04/2017			
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
 - Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

 MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de
Bamako

I – Buts

Décrire la technique du test de l'oxydase en microbiologie.

II - Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références V – Contenu

MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE L'OXYDASE

1. But du test :

La recherche de l'oxydase permet :

- D'identifier le genre *Neisseria spp* (positif)
- De séparer les Entérobactéries (négatif) des espèces du genre *Pseudomonas* (positifs pour la plupart)
- De différencier *Moraxella* (positif) et *Neisseria* (positif) d'*Acinetobacter* (négatif)
- De différencier *Pseudomonas maltophilia* (négatif) des autres *Pseudomonas sp* (positif)
- D'aider à l'identification d'*Aeromonas* (positif), *Alcaligenes* (positif), *Branhamella* (positif) et *Yersinia* (négatif).

Principe

Le test de l'oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif phénylènediamine, pour former un composé coloré en violet, l'indophénol.

L'acide ascorbique, incorporé dans le réactif, agit en tant qu'agent réducteur pour limiter l'autooxydation et améliorer la stabilité du réactif. Cette formulation est basée sur la formule de la réactive oxydase de Kovac.

Matériel

- Oese (en platine, plastique).
- Disques non imprégnés de diamètre 6 mm.

Condition de stockage

- Les réactifs se conservent entre 18°C et 25°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
 - Ne pas congeler.
- Conserver à l'abri de la lumière.
- Le réactif oxydase s'auto-oxyde rapidement et perd sa sensibilité. Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 24 heures.

Nature de l'échantillon

L'échantillon est constitué d'une colonie isolée pour laquelle on veut détecter l'enzyme cytochrome oxydase. Cette colonie doit être issue d'une culture de 18 à 24 heures sur milieux de culture gélosés solides.

Contrôle de qualité

L'activité du réactif peut être testée à l'aide des souches suivantes cultivées sur géloses

TrypcaseSoja(ou Drygalski) :

- Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- Escherichia coli* ATCC 25922

Souche	Résultats
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Positif : coloration violette
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Négatif : pas de coloration

Réalisation du test

- Placer le flacon compte-gouttes dans le briseur d'ampoule.
- Tapoter le fond du flacon pour éliminer les bulles qui auraient pu s'y former.
- Saisir le milieu de l'ensemble flacon/briseur et appuyer doucement pour briser l'ampoule.
- Distribuer précisément une goutte de réactif sur un disque non imprégné de diamètre 6 mm.
 - Etaler la colonie sur le disque.

Résultat

- **Lecture et interprétation**
 - o L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif.
 - o Des réactions tardives ou l'absence de couleur indiquent un test négatif.

NB :

- La réaction d'oxydase ne doit pas être réalisée sur des colonies obtenues sur gélose EMB ou

CHAPMAN 2, ni sur des colonies issues d'une culture de 48 heures sur des milieux gélosés solides.

- La recherche de l'oxydase ne doit pas être effectuée sur des colonies isolées présentant une coloration spontanée (couleur violette, rose, noire...). Dans ce cas, la lecture du test est impossible.
- L'utilisation d'un volume de réactif trop important peut entraîner des résultats faussement négatifs. N'utiliser qu'une seule goutte de réactif comme indiqué dans le mode opératoire.
- Il est conseillé d'utiliser une oese ou une aiguille en platine ou en plastique pour le test de l'oxydase. Toute trace de fer (nichrome) peut catalyser la réaction de l'oxydase et conduire à une réaction faussement positive.
- Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 12 heures.
- Les genres faiblement producteurs d'oxydase comme les *Pasteurella*, peuvent donner des résultats négatifs.
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir en cas de cultures mixtes de *Pseudomonas* et *Neisseria*. Une substance inhibitrice est produite par *Pseudomonas spp*. interférant avec la production d'oxydase de *Neisseria spp*.

Gestion des déchets

Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.

Éliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

Annexe 5 : MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

Rédigé le:	21/02/2005	Par : AlHadji SIDIBE	AS	Visa :
Vérifié le:	22/02/2005	Par : Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	23/02/2005	Par : Fatou Faye TRAORE	FFT	Visa :
Modifié le:	21/02/2013	Par : Tony ZITTI	LD	Visa :
Vérifié le :	25/03/2017	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	Visa :
Approuvé le:	25/03/2017	Par : Dr Madiné TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application le :	25/04/2016	Par :		Version N° 4
Date de revue :	25/03/2018			
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
- Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux Réf. P10 HYG- 002 V1

MO: Mode opératoire du prélèvement cyto bactériologique des urines Réf. M07 ANA

**BAC-
029**

Mode opératoire d'utilisation du Vitek 2 Compact Réf. M07 ANA BAC- 019 V1

Mode opératoire d'utilisation du mini Api Réf. M07 ANA BAC- 014 V1

Mode opératoire du test de l'oxydase Réf. M07 ANA BAC- 009 V2

Mode opératoire du test de la coagulase Réf. M07 ANA BAC- 023 V1

Mode opératoire de la technique de souchothèque Réf. M07 ANA BAC- 025 V2

Mode opératoire de la technique de coloration de Gram Réf. M07 ANA BAC- 022

V2

Mode opératoire d'utilisation de la cellule Kova Réf. M07 ANA BAC- 001 V1

Mode opératoire d'utilisation du microscope Réf. M04 MAT- 004 V1

I - Buts

Décrire le mode de l'examen cyto bactériologique des urines.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

BK : Bacille de Koch

E. coli : *Escherichia coli*

Na Cl : Chlorure de potassium

ATB : Antibiogramme

MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

1. Principe

L'examen cyto bactériologique des urines permet de rechercher une infection urinaire et d'identifier le(s) microorganisme(s) en cause.

2. Matériel

- Bocal (aérobie et anaérobie) ;
- Automate (mini API - VITEK 2 Compact) ;
- Densitomètre ;
- Vortex ;
- Cassette VITEK 2.

3. Consommables

- Oese ;
- Cartes VITEK 2 Compact ;
- Cellule de numération (Kova® slide) ;
- Bandelette (3 paramètres) ; Tube conique (10 à 20 ml) ; Tube sec.

4. Milieu de culture

□ Gélose **URI SELECT4**

5. Etape pré analytique

5.1. Nature du prélèvement

Le prélèvement urinaire doit être collecté dans **un flacon stérile**, et acheminé immédiatement au laboratoire pour traitement.

Le recueil des urines est une étape essentielle qui conditionne pour une grande part la qualité et l'interprétation de l'examen **Cf. Mode opératoire du prélèvement cytobactériologique des urines.**

Réf. **M07 ANA BAC- 029 V2**

6. Analytique

Récupérer la fiche de paillasse destinée à L'ECBU contenant, toutes les informations concernant le patient (en faisant le numéro 66 sur le CODAT informatique) puis procéder aux différentes étapes qui suivent :

6.1. Examen macroscopique

Elle consiste à noter l'aspect et la couleur des urines. Une urine normale est de couleur jaune et d'aspect limpide.

Aspect : limpide, légèrement trouble, trouble, hémorragique,

Couleur : jaune, jaune pâle, jaune dore, jaune foncé, jaune claire, ambrée.

6.2. Mise en culture

Ensemencer systématiquement pour éviter toute contamination des urines :

- Homogénéiser le prélèvement par agitation ;
- Porter le numéro d'identification du patient sur la gélose Uri select 4 avant de recevoir l'ensemencement ;
- Ensemencer sur une gélose Uri select 4 qui permet la numération et l'identification des principaux germes urinaires ;
- L'ensemencement proprement dit est réalisé à l'aide d'une pipette stérile calibrée à 10µl :

- Immerger l'ose dans l'urine en la tenant verticalement ; ○ Décharger le contenu de cette ose en appuyant la boucle sur le haut de la gélose Uri select 4 ; ○ Tirer de ce point une verticale jusqu'au 1/3 de la boîte; ○ Sans recharger l'ose, faire des stries perpendiculaires serrées en partant du point de dépôt jusqu'à la fin ;
- Si la technique est correctement réalisée et si le dépôt n'est pas trop important, après incubation, la boîte doit présenter des colonies isolées.
- Mettre la gélose **Uri select 4** dans un bocal (aérobie) et laisser incuber à 37°C pendant 24h.

6.3. L'examen microscopique

- Comptage des éléments

Après agitation délicate (pour avoir des urines homogènes), mettre 10µl d'urine dans la cellule de Kova, laisser reposer quelques minutes et lire au microscope à l'objectif x10 et x40 puis noter les différents éléments rencontrés dans les urines à savoir : les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les cristaux, les cylindres, les œufs de Schistosomes, le Trichomonas ... □ Les images de quelques éléments rencontrés dans les urines :

- ※ Les cylindres hyalins correspondent à une accumulation physiologique des protéines d'origine tubulaire qui se moulent dans les lumières tubulaires. Ces cylindres, qui ne contiennent aucune inclusion, ne sont pas pathologiques.
- ※ Tous les autres cylindres sont pathologiques et témoignent d'une atteinte rénale (granuleux, leucocytaires, hématiques ...).

CYLINDRES À L'EXAMEN DIRECT



Fig. 11. - Hyalin.



Fig. 12. - Cireux.

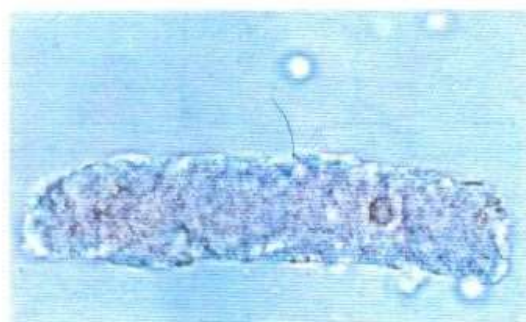


Fig. 13. - Granuleux.

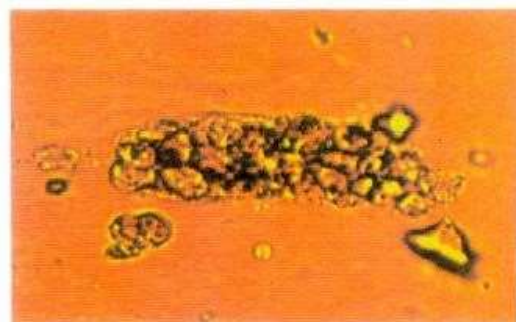


Fig. 14. - Leucocytaire.

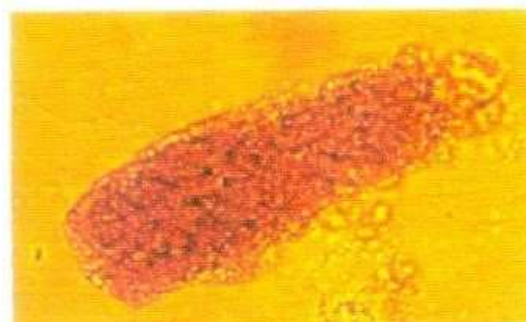


Fig. 15. - Hémoglobinique.

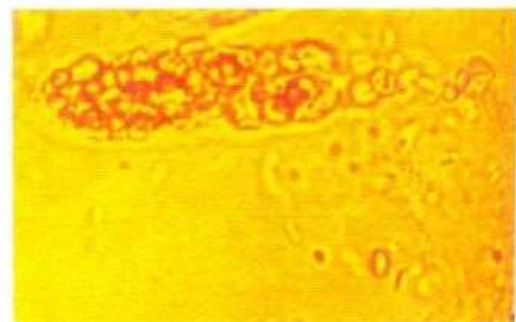


Fig. 16. - Hématique.

CRISTAUX À L'EXAMEN DIRECT



Fig. 1. - Acide urique (direct + lumière polarisée).

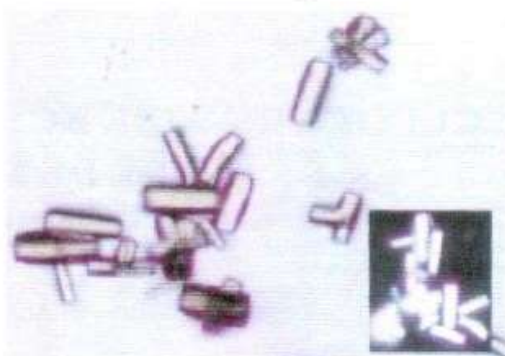


Fig. 2. - Acide urique (direct + lumière polarisée).



Fig. 3. - Urate.



Fig. 4. - Phosphate amorphe.



Fig. 5. - Oxalate de calcium.

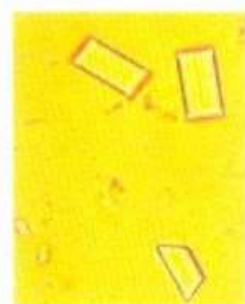


Fig. 6. - Phosphate ammoniaco-magnésien.



Fig. 7. - Cholestérol.

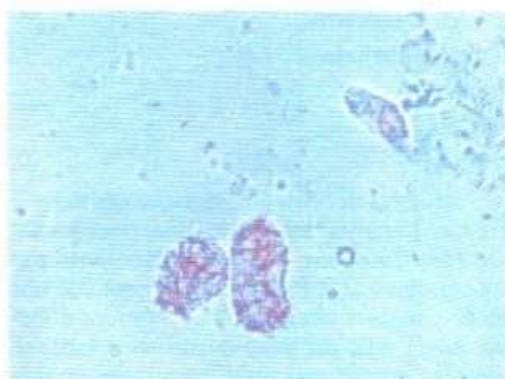


Fig. 8. - Bilirubine.

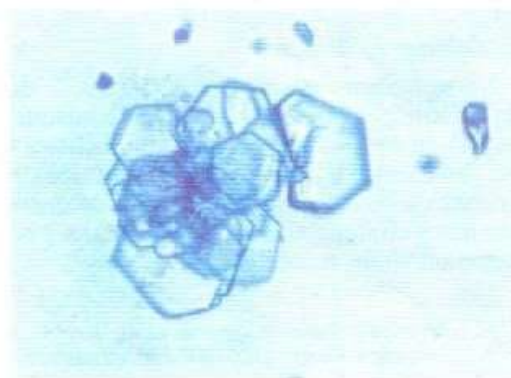


Fig. 9. - Cystine.

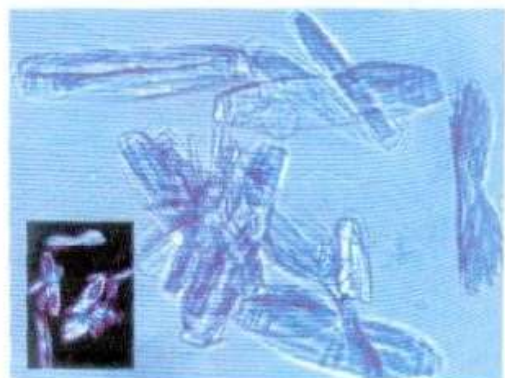
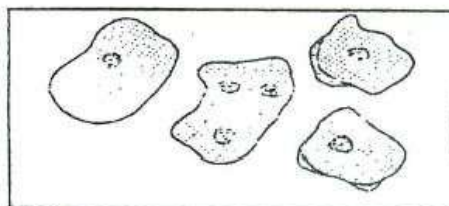
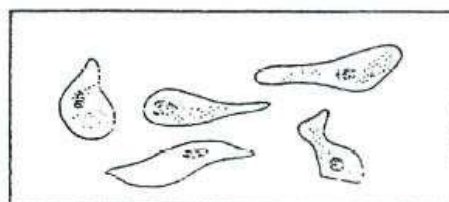


Fig. 10. - Cristaux médicamenteux.

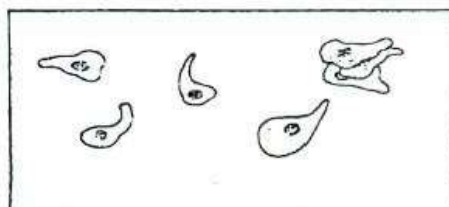
- F. Cellules épithéliales
 1. *Cellules épithéliales pavimenteuses*
 Grandes cellules rectangulaires de desquamation (arrachées aux épithéliums qui recouvrent les voies et organes urinaires).
 Elles proviennent:
 - de l'urètre.
 - ou du vagin.



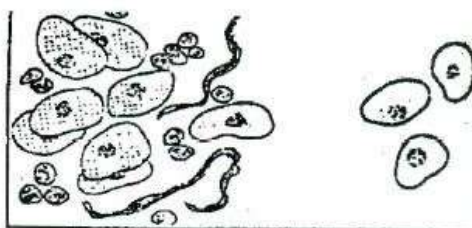
2. *Cellules de la vessie*
 Grandes cellules souvent en losange, avec un noyau bien distinct.



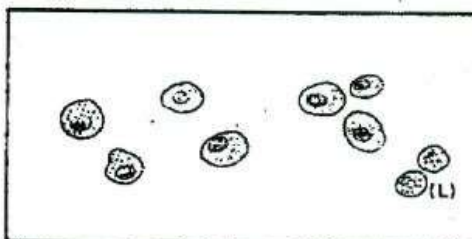
3. *Cellules du bassinnet*
 Cellules de taille moyenne (comme 3 leucocytes), granuleuses avec une sorte de queue.

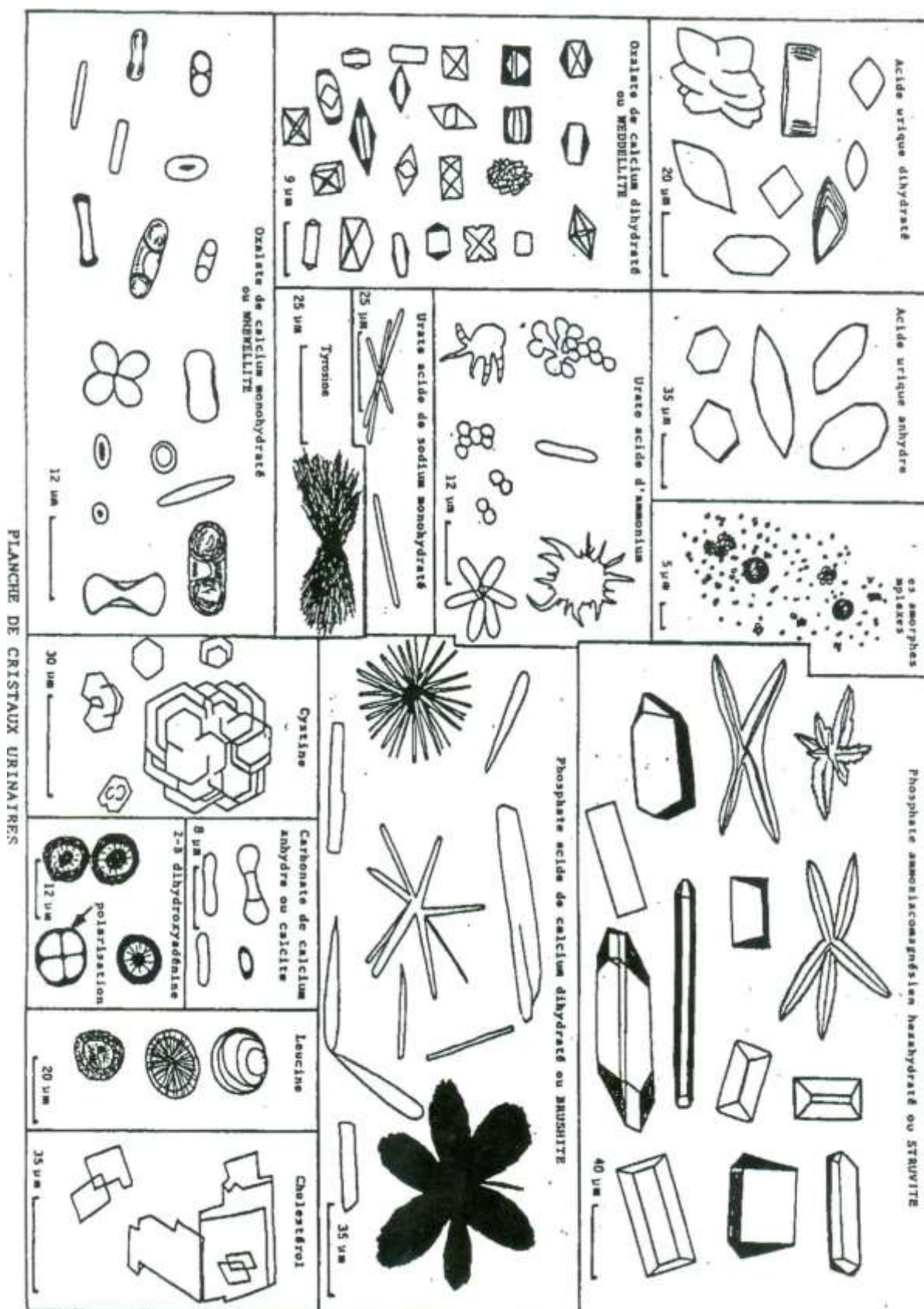


- Cellules de l'urètre ou du bassinnet*
 Cellules moyennes, ovales, à noyau bien distinct.
 Si elles sont nombreuses, accompagnées de leucocytes et de filaments, elles peuvent provenir de l'urètre.
 Si elles sont peu nombreuses, sans leucocytes, il peut s'agir de cellules du bassinnet.



- Cellules rénales*
 Les cellules rénales sont petites.
 - larges comme 1 à 2 leucocytes (L)
 - très granuleuses.
 Le noyau y est nettement visible, réfringent. Elles sont presque toujours accompagnées de protéines dans l'urine.





- Préparation du culot urinaire
 - o Homogénéiser l'urine ;
 - o Remplir les 3/4 d'un tube conique à centrifuger ;
 - o Centrifuger 5 minutes à 35 00 tours/minute ;
 - o Rejeter le surnageant dans le lavabo, en retournant le tube conique ;
 - o Remettre en suspension le culot en aspirant et refoulant doucement trois fois avec une pipette ;
 - o Etaler le culot sur une lame portant le numéro d'identification du patient pour la coloration de Gram **Cf. Mode opératoire de la coloration de Gram.**
 - o En suivant les règles d'utilisation du microscope, observer le frottis à l'immersion (objectif ×100).

- Dosages de protéines et du glucose

Elle consiste à la recherche de la présence de protéine et de glucose dans les urines à l'aide d'une bandelette adaptée :

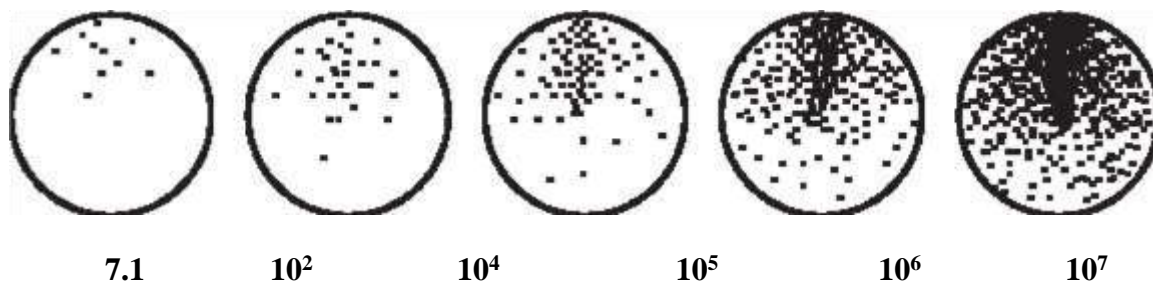
- Ne pas toucher les zones réactives de la bandelette,
- La plonger dans l'urine et la retirer immédiatement en éliminant l'excès d'urine en tapotant légèrement la tranche de la bandelette sur le bord du récipient.
- La tenir horizontale pour éviter toute interférence avec les réactifs des plages voisines.
- Lire à l'œil par comparaison à l'échelle colorimétrique.
- Si la lecture de la bandelette se révèle positive pour la recherche de protéine ou/et de glucose, prendre un tube conique et transvaser une partie des urines du flacon à centrifuger à 3500 tours pendant 5 minutes.
- Prendre un tube sec (tube à hémolyse) sur lequel on inscrira le numéro d'identification du patient, et y recueillir le surnageant qu'on enverra sur la paillasse de biochimie pour le dosage des protéines et/ou glucose.

N.B : Si l'urine est hémorragique il n'est pas nécessaire de faire l'étude chimique. Faire une recherche des cristaux et des parasites (schistosome) à partie du culot urinaire entre lame et lamelle.

6.4. Lecture et interprétation

- Numération

Après 24 heures d'incubation à 37°C, la densité des colonies présentes sur la moitié supérieure de la gélose **URISELECT 4** sera comparée à celle du schéma suivant :



Une numération $\leq 10^4$ germes/ml correspond le plus souvent à une contamination. Toutefois, un tel résultat doit être interprété en fonction de la leucocyturie et du contexte clinique. Une numération $\geq 10^5$ germes/ml correspond probablement à une infection, à condition que le prélèvement ait été correctement réalisé.

Leucocyturie (leuco/ml)	Bactériurie (bact/ml)	Interprétation
<10/mm ³	<10 ²	Urine normale, non infectée
>10/mm ³	>10 ²	Infection urinaire, habituellement mono microbienne, et poly microbienne chez un porteur d'une sonde à demeure
< 10/mm ³	>10 ²	Discordance entre absence de réaction cellulaire et bactériurie: infection débutante, contamination, infection sur terrain particulier
< 10/mm ³	10 ² à 10 ⁵	Contamination, prélèvement incorrecte. Un nouveau prélèvement est nécessaire
>10/mm ³	< 10 ²	Leucocyturie sans germe. Infection à BK, infection traitée par antibiotique, ou cause non bactérienne

Tableau : Numération et interprétation des colonies sur la gélose URISELECT 4.

□ Identification

Etablir le diagnostic en fonction de la couleur des colonies :

Coloration rose : il y a présomption d'*E. coli* à confirmer par le test urée / indole car toutes les colonies de coloration rose ne sont pas forcément des *E. coli*. On effectuera l'identification par le Vitek 2 Compact si Indole négative car *E. coli* est **Indole positive**.

Un faible pourcentage de souches d'autres bactéries possèdent une activité β galactosidase et peuvent apparaître de couleur rose sur ce milieu : il s'agit de souches rarement isolées au cours des infections urinaires (*Salmonella*, *Shigella*, *Streptocoque A*) ou de souches pouvant être rencontrées dans ce type d'infections mais étant indole négative (*Citrobacter*, *Hafnia*, staphylocoques, *Streptocoque B*).

Un très faible pourcentage des souches d'*E. Coli* présente un profil indole négative.

Coloration incolore :

Bacille à Gram négatif : faire une oxydase Cf. **Mode opératoire du test de l'oxydase**

- o **Si l'oxydase est positive**, il y a forte présomption de bactéries non fermentaires (*Pseudomonas*, *Bulkholderia...*) ;
- o **Si l'oxydase est négative**, cas des bactéries fermentaires(Entérobactéries).

Dans les deux cas faire une identification et l'antibiogramme par Vitek 2 Compact.

Cocci à Gram positif : faire la catalase et la coagulase Cf. **Mode opératoire du test de la coagulase**

Réf. M07 ANA BAC- 023 V1

Coloration bleue : réaliser un examen microscopique :

Bacille à Gram négatif : il y a forte présomption de bactérie appartenant au groupe K.E.S.C

(*Klebsiella* –*Enterobacter* – *Serratia- citrobacter*) ; faire une identification par l'automate Vitek 2 Compact ou Mini Api

Cocci à Gram positif: forte présomption d'Entérocoque

Coloration brune : Forte présomption d'une bactérie appartenant au groupe *Proteus-ProvidenciaMorganella*.

Dans tous les cas de colorations, on procèdera à une identification sur l'automate Vitek 2 Compact suivi d'un antibiogramme. Les identifications et les antibiogrammes s'accompagnent toujours d'une pureté sur un milieu de culture en fonction du germe.

Un antibiogramme est obligatoirement réalisé si le dénombrement signe une infection urinaire et lorsqu'on possède des colonies isolées des bactéries responsables (obtenues en 24h).

Cf. Mode opératoire d'utilisation du Vitek 2 Compact Réf. M07 ANA BAC-

019 V1 Antibiogramme réalisé sur le Mini Api

Le Mini Api nous sert à l'antibiogramme des bactéries à oxydase positive telles que *Pseudomonas aeruginosa* et les streptocoques du groupe B.

- Pour *Pseudomonas aeruginosa* ou les *Streptocoques du groupe B*, prendre une carte de lecture de *Pseudomonas aeruginosa* ou streptocoque sur laquelle on notera le numéro d'identification du patient ;
- Prendre un flacon de solution de Na Cl à 0,85% ;
- Casser le bout du flacon ;
- A l'aide d'une oese prendre avec 2 à 3 colonies isolées sur la gélose ;
- Introduire l'oese dans le flacon contenant la solution de Na Cl à 0,85% ;
- Frotter la partie de l'oese sur laquelle les colonies ont été prélevées dans le flacon jusqu'à obtenir une suspension homogène ;
- Prendre 10 µl de cette suspension qu'on introduira dans une solution ATB Médium pour *Pseudomonas aeruginosa* ou 200 µl de cette suspension dans une solution ATB S Médium pour les *Streptocoques du groupe B* ;
- Distribuer successivement 135 µl de cette solution qu'on va introduire dans chaque puits de la galerie ;
- Fermer ensuite la galerie et la mettre dans un bocal qu'on laissera à incubation à 37° pendant 24h à l'étuve ;
- Le lendemain matin prendre la galerie et l'introduire dans l'automate Mini Api pour l'antibiogramme en suivant les différentes instructions de l'automate.

A la fin de l'identification et l'établissement de l'antibiogramme, on procède dans le cas où on observe des germes multi résistants au souchage des bactéries concernées :

- *Salmonelles*
- *Staphylococcus aureus* (Méthicyline, Vancomycine Résistants)
- *Klebsiella pneumoniae*
- *E. coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*... **Cf. Mode opératoire de la technique de souchothèque Réf. M07**
ANA BAC- 025 V2

6.5. Résultat

Préalablement noté sur la fiche de paillasse édité, celui-ci doit être saisi dans le système informatique du laboratoire.

Si possible, communiquer le résultat au clinicien en charge du patient. Cependant seul le biologiste est à mesure de téléphoner ou ses assistants. **6.6. Validation technique/ Critères de repasse**

La validation de l'antibiogramme effectuée par la galerie Mini Api doit être faite par le technicien. Si le milieu est limpide, le germe est non résistant (sensible) à l'antibiotique existant dans ce puit, dans le cas où le milieu est trouble, le germe est résistant à l'antibiotique. Le technicien doit vérifier que le résultat de l'automate est conforme à celle qu'il observe sur la galerie, dans le cas contraire rectifier les résultats de l'automate.

6.7. Hygiène et sécurité

Avant et après les manipulations, nettoyer la paillasse avec de l'eau de Javel à 10%.

- Faire toujours les manipulations en présence d'une flamme ;
- Toujours porter des gants, des chaussures fermées et si possible un masque de protection ;
- Eviter de toucher les portails, les appareils et les microscopes avec les gants ; □ Ne jamais manger, ni boire lors des manipulations en laboratoire.
- Bien conserver à +2 - 8°C, à l'abri de la lumière les milieux de culture et les bouillons afin d'éviter les contaminations ;
- Eviter tout liquide inflammable aux environs de la flamme ;
- Eviter de déposer les bouteilles au bord des paillasses ;
- Se laver les mains bien et régulièrement à l'eau de Javel et au savon anti-bactéricide.

7. Post analytique

7.1. Validation biologique

Réservée au biologiste, elle s'effectue en confrontant l'ensemble des résultats avec les éléments cliniques apportés par la discussion avec le médecin prescripteur. Elle est objectivée par la signature du compte-rendu.

7.2. Rendu des résultats

Après la validation biologique les résultats sont enregistrés par le technicien ou la secrétaire dans le registre de la section bactériologie/parasitologie et rendu sous pli fermé au médecin ou au malade.

7.3. Gestion des déchets

Pendant la manipulation tous les objets souillés sont plongés systématiquement dans l'eau de javel à 12° chlorimétrique. Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (poubelle contaminée). Tous les déchets seront éliminés après le travail. **Cf. Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux Réf. P10 HYG- 002 V1**

7.4.. Archivage des données

L'enregistrement, les cahiers de paillasse et les registres de laboratoire sont conservés au laboratoire. Le système informatique du laboratoire permet d'archiver tous les dossiers des patients.

Annexe 6 : MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DU LIQUIDE D'ASCITE

Rédigé le:	25/02/2005	Par : Al Hadji SIDIBE	AS	Visa :
Vérifié le:	03/03/2005	Par : Dr Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	04/03/2005	Par : Fatou Traoré FAYE	FTF	Visa :
Modifié le:	01/08/2013	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Vérifié le :	02/08/2016	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:	10/08/2016	Par : Dr Madiné TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application :	08/09/2016			Version N° 2
Date de revue :	08/08/2017			
Objet de la modification:	Révision annuelle			
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
- Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux Réf. P10 HYG- 002 V1

MO: Mode opératoire d'utilisation du Vitek 2 Compact Réf. M07 ANA BAC- 019 V1

Mode opératoire d'utilisation du mini Api Réf. M07 ANA BAC- 014 V1

D:

E:

I – Buts

Décrire la technique de la réalisation de l'ECB du liquide d'ascite.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Les Biologistes et tous les responsables techniques habilités à utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

ECB : Examen CytoBactériologique

IV – Références

Documents du laboratoire

V – Contenu

MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DU LIQUIDE D'ASCITE

1. But

L'examen cyto bactériologique du liquide d'ascite est essentiellement considéré ici dans le cadre des infections des cirrhoses. Il peut y avoir également surinfection au cours d'une dissémination sanguine bactérienne. L'ascite peut également être le point de départ d'une bactériémie.

2. Principe

Le liquide d'ascite est une ponction faite aseptiquement au niveau de la fosse iliaque gauche, après toilette de la peau au savon liquide, dégraissage à l'éther, puis désinfection avec un antiseptique fort comme l'alcool iodé. Le liquide est recueilli à l'aide d'une seringue puis transféré :

- Dans un tube stérile (tube sec) en vue de l'étude bactériologique,
- Dans un tube avec un anticoagulant (tube hépariné) en vue de l'examen cytochimique Le prélèvement doit parvenir au laboratoire accompagné de renseignements cliniques et du contact du médecin traitant.

La possibilité de tuberculose pulmonaire, et donc la recherche du Bacille de Koch, doit toujours être envisagé.

3. Matériel

- Micropipettes réglable ;
- Portoir en fer ;
- Conteneur de déchets contaminés ; Plaque chauffante.

4. Consommable

- Gants à usage unique ;
- Lames;
- Embouts ; Tubes à hémolyse ; Cellule de kovas.

5. Réactif

- Colorant de GRAM ;
- Bouillon (cœur-cervelle) ;
- Milieux de culture (gélose au sang frais COS et au sang cuit Chocolat) ; Cartes Viteck 2 Compact ou galerie classique Mini Api.

6. Etape pré-analytique

6.1. Enregistrement

Informatique CODAT : code LIQ

6.2. Prélèvement

Tube hépariné préférentiellement ou tube sec.

7. Etape analytique

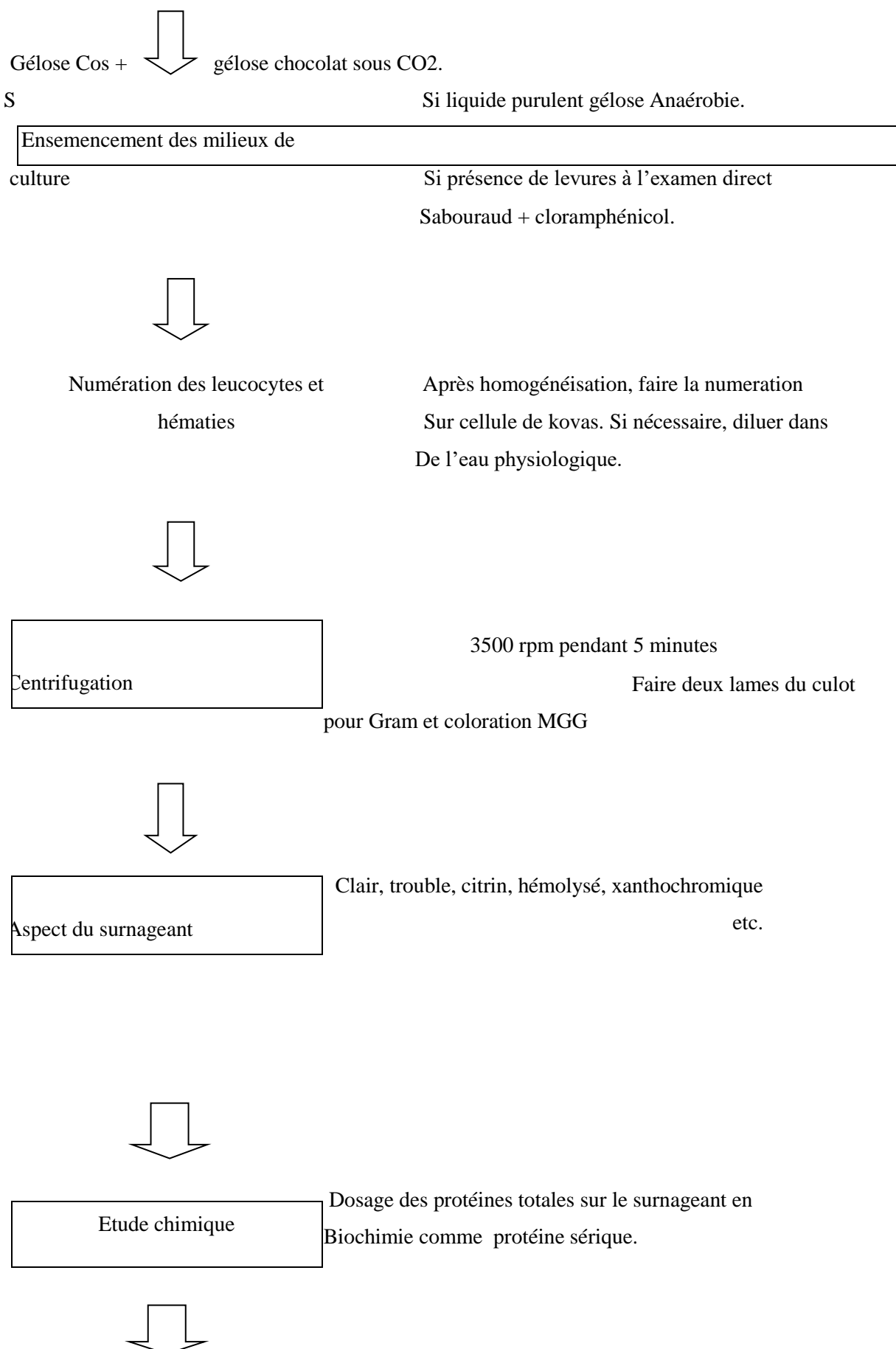
7.1. Examen bactériologique

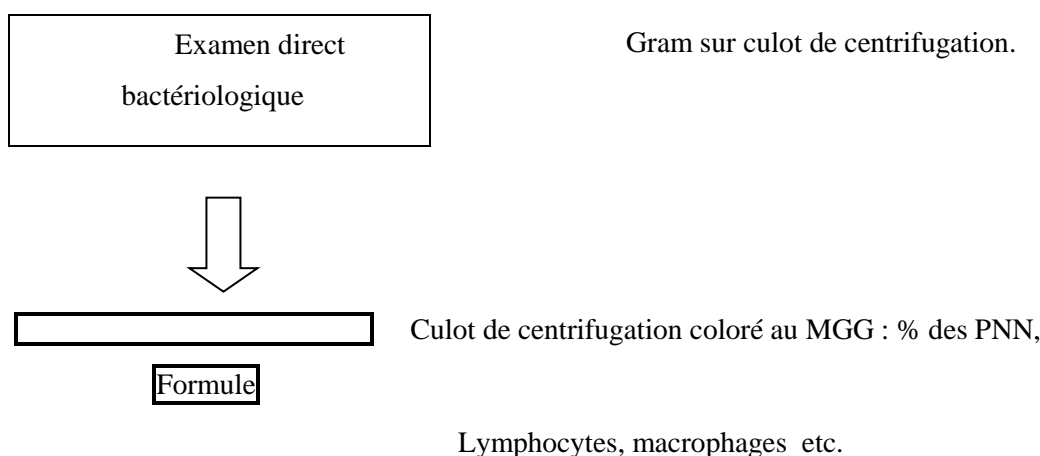
L'analyse bactériologique est toujours faite immédiatement.

L'examen cytologique s'effectue de préférence sur le tube hépariné. Noter sur la fiche de paillasse des liquides de ponction

- : Identification du laboratoire,
 La nature de la ponction.

Aspect macroscopique	Aspect du liquide : clair, trouble etc.





7.2. Incubation

L'incubation s'effectue à 37°C sous CO₂ dans une jarre pour les géloses chocolat et sang frais et en sachet anaérobie une gélose au sang frais pour le cas d'un liquide purulent. Le tout porté à l'étuve.

7.3. Lecture

La lecture des milieux est réalisée au bout de 24h puis 48h.

On procède à l'identification de toutes les bactéries. Les germes contenus dans le liquide d'ascite cirrhotique sont les entérobactéries et tout particulièrement *Escherichia coli*, mais aussi *Staphylococcus aureus* et plus rarement *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella spp*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas spp*, etc .

Dans le cas de la tuberculose, la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans l'épanchement est plus efficace .

7.4. Antibiogramme

On réalise un antibiogramme sur les germes suspects isolés en commun accord avec le Biologiste ou ses Assistants.

N.B : Identification + antibiogramme confère mode d'utilisation du Viteck 2 Compact ou du mini Api.

7.5. Hygiène et sécurité

- Ne jamais manipuler les échantillons à main nue et en absence de flamme ;
- Porter des gants à usage unique lors des manipulations ;
- Ne pas pipeter à la bouche ;
- Eviter les éclaboussures d'échantillons ou de solution les contenant ;
- Les surfaces souillées seront nettoyées par de l'eau de javel diluée à 10% ;
- Ne pas utiliser de réactifs après la date d'expiration : cas du Viteck ou Mini API
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents ;

- Utiliser un cône de distribution neuf pour chaque échantillon

7.6. Validation technique/ Critères de repasse

La validation de l'antibiogramme effectuée par la galerie Mini Api doit être faite par le technicien. Si le milieu est limpide, le germe est non résistant (sensible) à l'antibiotique existant dans ce puit, dans le cas où le milieu est trouble, le germe est résistant à l'antibiotique.

Le technicien doit vérifier que le résultat de l'automate est conforme à celle qu'il observe sur la galerie, dans le cas contraire rectifier les résultats de l'automate.

7.7. Résultat

Préalablement noté sur la fiche de paillasse édité, celui-ci doit être saisi dans le système informatique du laboratoire.

Si possible, communiquer le résultat au clinicien en charge du patient. Cependant seul le biologiste est à mesure de téléphoner ou ses assistants.

8. Etape post analytique

8.1. Validation biologique

Effectuer par le biologiste, consistant à interpréter les résultats du test en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres examens.

8.2. Rendu des résultats

Les résultats sont rendus manuellement par le technicien responsable de l'examen sur le système CODAT.

8.3. Gestion des déchets

Pendant la manipulation tous les objets souillés sont plongés systématiquement dans l'eau de javel à 12° chlorimétrique. Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (poubelle contaminée). Tous les déchets seront éliminés après le travail. Cf. Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux Réf. P10 HYG- 002 V1

8.4. Archivage

L'enregistrement, les cahiers de paillasse et les registres de laboratoire (serveur électronique) sont conservés au laboratoire.

Annexe 7 : MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PUS ET ABCES

Rédigé le:	21/02/2013	Par : Doussou COULIBALY	DC	Visa :
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Approuvé le:	25/03/2013	Par : Dr Bréhima TRAORE	BT	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :	25/03/2017	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	Visa :
Approuvé le:	25/03/2017	Par : Dr Madiné TALL TOURE	MTT	Visa :
Mise en application le :	25/04/2016	Par :		Version N° 1
Date de revue :	25/03/2018			
Objet de la modification:	Révision annuelle			
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité
- Dossier commun sur le serveur

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako P:

Procédure de gestion des déchets

MO: Mode opératoire de la coloration de Gram

Mode opératoire d'utilisation du VITEK 2 COMPACT

Mode opératoire d'utilisation du mini Api

I - Buts

Décrire le mode de l'examen bactériologique des pus et abcès.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

ECB : Examen Cytobactériologique

ATB : Antibiogramme

IV – Références

V – Contenu

MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN

BACTERIOLOGIQUE DES PUS ET ABCES

MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN

1. Principe

Il s'agit d'identifier des germes pathogènes par ensemencement sur un certain nombre de milieux de culture spécifiques aux germes recherchés.

2. Matériel

- Microscope,
- Bec benzène,
- Micropipettes
- Pipettes pasteur,
- Jarre (aérobie et anaérobie),
- Plaque chauffante,
- Etuve,
- Automate (mini Api - VITEK 2 Compact),
- Vortex,
- Densitomètre,
- Cassette VITEK 2 Compact.

3. Consommables

- Gants,
- Embouts,
- Lames et lamelles,
- Tubes à hémolyse,
- Oeses,

- Cartes VITEK 2 Compact, Disques pour antibiogramme, Sachets anaérobies.

4. Réactifs

- Milieux de culture,
- Bouillon,
- Colorants de Gram,
- Réactif de la catalase,
- Réactif du test de l'oxydase,
- Réactif du test de coagulase, Réactif Urée-Indole-TDA.

5. Etape pré analytique

5.1. Nature du prélèvement

La nature du prélèvement doit être inscrite en renseignement clinique sur la fiche d'analyse qui accompagne le prélèvement. Le prélèvement doit être collecté soit dans un tube sec, soit par écouvillonnage et acheminé immédiatement au laboratoire, à défaut le conserver au frais pour le lendemain

5.2. Localisation

- Editer fiche de paillasse sur le Syslam (Système Informatique de Gestion du Laboratoire) en tapant **66** après avoir saisi le nom et le mot de passe de l'utilisateur qui est individuel.

- Choisir une **imprimante** (2 ou 4) au niveau de la réception, puis **lancement** et terminer par **sortir**.
Sur la fiche récupérée, notifier le type de prélèvement dans la liste **DA** à savoir :

cutané	oreille droite	narine droite	plaie	cathéter
lait maternel	oreille gauche	narine gauche	ulcère	escarre
squames	œil droit	lingual	péri anal	sécrétion
ongle	œil gauche	gingival	gland	
nasal	buccal	gorge	pus	

-Préciser si le prélèvement est soit effectué au laboratoire, soit transmis ou soit apporté dans la liste **DC**.

Les listes **DE, DG, DI, DJA, DJB** sont à ignorer.

6. Etape analytique

6.1. Protocole de l'analyse

- Porter les milieux de culture (Gélose au sang – Drygalski – Chapman- Sabouraud – Mueller Hinton) à l'étuve pour séchage cinq (05) minutes environ,
- Préparer si possible une suspension à l'aide de Api Medium (si prélèvement par écouvillonnage),
- Identifier un tube à hémolyse contenant un bouillon de cœur-cervelle et y ajouter deux à trois gouttes de la suspension réalisée si la plaie est profonde,
- Si le prélèvement est dans un tube utiliser directement le prélèvement.

6.1.2. Examen direct

- Sur une lame, réaliser un étalement du prélèvement
- Sécher la lame sur la plaque chauffante préalablement régler à 50 °C,
- Passer à la coloration Gram **Cf. Mode opératoire de la coloration de Gram. Réf. M07 ANA BAC- 021 V1**

N.B : Attention ne pas dépasser cette température au risque de déformer les germes.

1.3. Culture

- Les différents milieux de culture sontensemencés en fonction du Gram lu : o Gélose au sang (COS), incubée à 37°C sous CO₂, o Gélose chocolat, incubée à 37°C sous CO₂, o Gélose au sang, incubée à 37°C en anaérobiose,
 - o Drygalski, incubé en aérobiose (si bacilles au Gram négatif), o Chapman, incubé en aérobiose,
 - o Sabouraud, incubé en aérobiose (en fonction du prélèvement), o CAN 2, incubé en aérobiose, o Mueller Hinton, incubé en aérobiose, o Bouillon cœur cervelle.
- Porter le tout à l'étuve pendant 24 heures.

NB : si les germes ne poussent pas sur les différents milieux de culture citées ci-dessus avec un nombre élevé de leucocytes, penser à la recherche de BAAR.

6.1.4. Lecture et interprétation

- Identifier et faire les antibiogrammes sur les colonies suspectes
- Si la culture est stérile après 24 heures d'incubation, ré incuber les géloses au sang sous CO₂ pendant 48 heures,

En présence d'un **Bacille Gram négatif** :

- Lactose positive, faire l'identification et l'antibiogramme
- Lactose négative, faire le test à l'oxydase puis réaliser simultanément une identification et un antibiogramme en fonction du résultat du test,
 - En présence d'un **Cocci Gram positif**, catalase négative type Streptocoque, faire le Slidex Strepto-plus et étudier en fonction du contexte clinique (par exemple : la détermination du Streptococcus pneumo par le test d'optochine, Cf. mode opératoire du test à l'optochine),
 - En présence d'un **Cocci Gram positif**, catalase positive, mannitol positif, faire la coagulase puis passer à l'antibiogramme en cas de positivité,
 - Si la coagulase est négative discuter avec le biologiste ou ses assistants et étudier toujours en fonction du contexte clinique,
 - En **présence des levures**, identifier et faire l'antifongigramme,
 - Pour d'autres morphologies, discuter avec le biologiste ou ses assistants.

Les identifications et les antibiogrammes s'accompagnent toujours d'une pureté sur milieu de culture : Pour d'éventuel cas de souchage (Bacilles Multi résistants, Staphylocoques Méthicyline résistants et Vancomycine résistants...).

6.1.5. Interprétation des antibiogrammes

- Lorsqu'elle est réalisée à partir des disques sur milieu Muller Hinton ou sur milieu COS, l'interprétation se fera par mesure des différentes CMI tout en se référant sur les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Edition de Janvier 2007).
- Lorsqu'elle est faite par le biais des galeries ATB sur mini API, une relecture à l'œil nu est préconisée après celle de l'appareil afin d'être sûr des résultats donnés par l'appareil.
- Si l'antibiogramme est réalisé sur le VITEK 2 Compact, un système d'expertise incorporé à la base de données permet une interprétation plus détaillée des types de résistances. Devant une suspicion de présence d'une Bêta lactamase à spectre élargie (BLSE) faire la recherche

sur milieu MH avec les antibiotiques suivants : AMC au centre, CTX de côté et CZ de côté également permettant d'obtenir un bouchon de champagne.

6.2. Validation technique/ Critères de repasse

Ceux-ci sont réservés au technicien qui apprécie la pureté des colonies à travers les galeries API et celles des ATB. Si un contaminant est observé, purifier de nouveau à partir de la pureté pour une bonne identification et un bon antibiogramme.

6.3. Hygiène et sécurité

- Avant et après les manipulations, nettoyer la paillasse avec de l'eau de javel à 10 %
- Toujours manipuler en présence d'une flamme
- Toujours porter des gants, des chaussures fermées si possible un masque de protection
- Eviter de toucher les portails, les appareils et les microscopes avec les gants □ Ne jamais manger ni boire lors des manipulations en laboratoire
- Bien ranger les milieux de culture et les bouillons afin d'éviter les contaminations
- Eviter tout liquide inflammable aux environs de la flamme
- Eviter de déposer les bouteilles au bord des paillasses
- Se laver les mains régulièrement à l'eau de javel et au savon anti-bactéricide.

7. Etape post analytique

7.2 7.1. Validation biologique

Réservé au biologiste ou ses assistants. Elle s'effectue en confrontant l'ensemble des résultats avec les éléments cliniques apportés par la discussion avec le médecin prescripteur. Elle est objectivée par la signature du compte-rendu.

7.2. Rendu des résultats

Préalablement noté sur la fiche de paillasse éditée sur le système informatique CODAT, saisir les résultats. Si possible téléphoner le résultat au clinicien en charge du patient. Cependant seul le biologiste ou ses assistants sont à mesure de téléphoner.

7.3. Gestion des déchets

Vider à chaque fin de journée les boites de pétri utilisées datant de deux jours et les sachets poubelle qui doivent être bien scotchées et déportées à l'arrière du laboratoire dans les grands fûts déposés pour la circonstance. **Cf. Procédure de tri et élimination des déchets biomédicaux. Réf. P10 HYG- 002 V1**

7.4. Archivage des données

Les dossiers en fin d'étude doivent être mis dans un carton où est inscrite la période d'utilisation et une fois remplie le transférer au magasin où une étagère est prévue pour les archives. Le système informatique du laboratoire archive aussi tous les dossiers des patients.

FICHE SIGNALITIQUE

NOM : SIDIBE

PRENOM : Mamadou

ADRESSE : 00223 78 45 42 57

elmadouben3@gmail.com



TITRE DE LA THESE : CARACTERISATION DES SOUCHES D'*Escherichia coli* ET DE *Klebsiella spp* MULTIRESISTANTES ISOLEES CHEZ LES HUMAINS, LES ANIMAUX ET DANS L'ENVIRONNEMENT AU LRM DE BAMAKO.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019-2020

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie et de la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomalogie de Bamako.

SECTEURS D'INTERET : Microbiologie, Santé Publique, Infectiologie, Industrie pharmaceutique.

RESUME

Introduction et objectifs : Les bactéries résistantes aux ATB ou leurs déterminants de résistance sont connus pour se transmettre des animaux aux humains via la chaîne alimentaire. Cette étude a pour but de Caractériser les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* multi résistantes isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement.

Matériels et Méthode : Des souches d'*E. coli* et de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées à partir des échantillons humains, animaux et de l'environnement par la méthode de bactériologie classique d'identification et de test de sensibilité.

Résultats : Notre étude s'est déroulée du 1^{er} janvier au 31 décembre 2019. Au total **129** souches d'*E. coli* et **48** souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, ont été isolées chez les humains soit respectivement **59,44%** et **22,11%** du total des entérobactéries isolées. **40** souches d'*E. coli* et 11 souches de *Klebsiella spp* ont été isolées chez les animaux. **30** souches d'*E. coli* et **26** souches de *Klebsiella spp* ont été isolées de l'environnement.

Les résistances les plus élevées, des souches d'*E. coli* isolées chez les humains ont été observées vis à vis du cotrimoxazole (**88,19%**), de la ticarcilline (**86,96%**), de l'amoxicilline (**85,94%**) et de l'acide nalidixique (**64,34%**). L'imipénème était l'antibiotique le plus actif (**100%**).

Les résistances étaient plus faibles pour les mêmes antibiotiques pour les souches isolées des animaux et de l'environnement chez qui les résistances étaient comparables. Respectivement amoxicilline (**47,50%**), cotrimoxazole (**47,50%**), ticarcilline (**45%**) et amoxicilline (**73,33%**), ticarcilline (**45,83%**), cotrimoxazole (**36,67%**).

Toutes les souches d'*E. coli* étaient sensibles à l'imipénème (**100%**).

Les souches de *K. pneumoniae* isolées des humains présentaient des taux de résistances élevés vis-à-vis du cotrimoxazole (**63,83%**), de l'amoxicilline-acide clavulanique (**60,42%**), de la cefotaxine (**52,78%**) et de la ceftazidime (**47,92%**). Un taux de résistance de **4,55%** a été observé à l'imipénème.

Les souches isolées des humains ont exprimé des taux de production de BLSE respectivement de **24,81%** chez *E. coli* et de **29,17%** chez *K. pneumoniae*.

Conclusion : La résistance aux antibiotiques n'épargne aucun des trois secteurs qui les utilisent. Elle est plus marquée dans le secteur humain alors que les antibiotiques sont plus utilisés dans le secteur animal.

Mots clés : *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, résistance, antibiotiques, humains, animaux, environnement, Mali.

ABSTRACT

Introduction and objectives: BACTERIA resistant to ATB or their determinants of resistance are known to transmit from animals to humans through the food chain.

The purpose of this study is to characterize the multi-resistant strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp* isolated from humans, animals and the environment.

Materials and Method: Strains of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* were isolated from human, animal and environmental samples by the conventional bacteriology method of identification and sensitivity testing.

Results: Our study ran from January 1 to December 31, 2019. A total of 129 strains of *E. coli* and 48 strains of *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, were isolated in humans at 59.44% and 22.11% respectively of the total isolated enterobacteriaceae. 40 strains of *E. coli* and 11 strains of *Klebsiella spp* were isolated from animals. 30 strains of *E. coli* and 26 strains of *Klebsiella spp* were isolated from the environment.

The highest resistances, strains of *E. coli* isolated in humans were observed with cotrimoxazole (88.19%), ticarcillin (86.96%), amoxicillin (85.94%) and nalidixic acid (64.34%). Imipenem was the most active antibiotic (100%).

Resistance was lower for the same antibiotics for isolated strains of animals and the environment with comparable resistances. Respectively amoxicillin (47.50%), cotrimoxazole (47.50%), ticarcillin (45%) and amoxicillin (73.33%), ticarcillin (45.83%), cotrimoxazole (36.67%).

All strains of *E. coli* were sensitive to imipenem (100%).

K. pneumoniae strains isolated from humans had high resistance rates to cotrimoxazole (63.83%), amoxicillin-clavulanic acid (60.42%), cefotax (52.78%) ceftazidime (47.92%). A resistance rate of 4.55% was observed to imipenem.

Isolated strains from humans reported production rates of BLSE of 24.81% at *E. coli* and 29.17% in *K. pneumoniae*, respectively.

Conclusion: Antibiotic resistance does not spare any of the three sectors that use them. It is more pronounced in the human sector while antibiotics are used more in the animal sector.

Keywords: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, resistance, antibiotics, humans, animals, environment, Mali.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes 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 ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure!