

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

République du Mali

Un Peuple - Un But - Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE  
BAMAKO (U.S.T.T.B)



FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 – 2021

N° \_\_\_\_ /

TITRE

**Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries  
isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020.**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 12 / 06 /2021 devant la Faculté  
de Pharmacie

*Par* **M. Aboubacar A GORO**

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

**JURY**

Président : Pr Flabou BOUGOUDOGO

Membres : Dr Ibréhima GUINDO

Dr Youssouf DEMBELE

Co-directeur: Dr Mohamed AG BARAIKA

Directeur : Pr Bourèma KOURIBA

**LISTE DES ENSEIGNANTS DE  
LA FACULTE DE PHARMACIE**

Ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement  
Supérieur et de la recherche scientifique

République 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°	Prénoms	Nom	Spécialité
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.	KEITA	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

### ➤ Professeurs / Directeurs de recherche :

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
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

### ➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique /Bio-Statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>CHEF DE DER</b>
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé Environnement

### ➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	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	Kléligui 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	Almoustpha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé Communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

➤ **Assistants / Attachés de recherche**

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Djénéba	Coulibaly	Nutrition /Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen Dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé Publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

**DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

➤ **Professeurs / Directeurs de recherche**

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOOGO	Pharmacognosie <b>CHEF DE DER</b>

## Maîtres conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
-	Néant	-	-

### ➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
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

### ➤ Assistants attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
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 Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
13	Mohamed Dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

## DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

### ➤ Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

### ➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Sékou	BAH	Pharmacologie <b>CHEF DE DER</b>

### ➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimie
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

### ➤ Assistants / Attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	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

### ➤ Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mouctar	DIALLO	Biologie <b>CHEF DE DER</b>
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique

### ➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliqué

### ➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie Végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale

### ➤ Assistants / Attachés de recherche

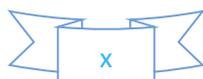
N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

### ➤ Chargés de cours (vacataires)

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
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

<b>7</b>	Babacar	DIOP	Chimie Organique
<b>8</b>	Aboubakary	MAÏGA	Chimie Organique
<b>9</b>	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
<b>10</b>	Modibo	SANGARE	Anglais
<b>11</b>	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
<b>12</b>	Fana	TANGARA	Mathématiques
<b>13</b>	Djénébou	TRAORE	Sémiologie Et Pathologie Médicale
<b>14</b>	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
<b>15</b>	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

# DEDICACE



## **DEDICACE**

Je dédie ce travail

**Au prophète Mohamed**, que la paix et la bénédiction d'ALLAH soit sur lui, sa famille et ses compagnons.

### **A papa et maman**

Vous aviez pris soins de moi, rassuré et réconforté. J'ai reçu de vous l'éducation dans la joie et l'amour. Vous m'aviez appris l'amour du travail et la recherche de la perfection en toutes choses. Puisse ce travail m'offrir l'occasion d'être digne à vos conseils. Je n'espère ne jamais vous décevoir. Je vous remercie, pour tous les sacrifices et efforts consentis pour moi. Tout ce que je suis aujourd'hui c'est à vous que je le dois. Que ce travail soit source de joie pour vous et pour tous les parents du monde entier.

## **REMERCIEMENTS**

**A ALLAH**, le tout puissant, le clément et miséricordieux. Vous qui savez tout, qui avez voulu et permis que ces jours arrivent, sans votre volonté rien ne serait possible. Merci pour le vécu et pour le futur.

A mon pays le **MALI** et à ses autorités d'avoir rendu l'enseignement gratuit.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à la faculté.

A l'ensemble du corps professoral de la faculté de Pharmacie pour la qualité des cours dispensés.

**A mes frères** : Amadou GORO, Dr Idrissa GORO, Dr Souleymane GORO, Sidiki GORO, Ayouba GORO, Zakaria GORO, Moussa GORO, Hamadoun GORO, Boureïma Dourbela, Moussa Dourbela je ne sais comment vous exprimer ma gratitude pour ce que vous avez fait pour moi.

A mes cousin(e)s ; mes tontons et tantes merci pour l'accompagnement.

A mes oncles maternels merci pour tout.

A ma fiancée **Hamsétou GORO** : ce travail est également le fruit de tes prières, de ta patience et encouragements.

Qu'ALLAH le tout puissant, bénisse notre foyer. Je n'aurai jamais assez de mots pour t'exprimer ici mon attachement, ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

**A Saliou GORO et famille** qui m'ont offert une vie familiale à Bamako.

Merci pour vos sages conseils et tout le soutien que vous m'avez apporté tout au long de mes études.

A l'oncle **Daouda GORO** et famille à Dinangourou, à la famille **Feu Boureïma GORO** à Koro, et **Ousmane GORO** et famille à Koutiala, vos soutiens m'ont permis de rester optimiste durant ces années d'étude, merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

**Aux Docteurs du laboratoire de biologie médicale PA&KA: Youssouf DEMBELE, Djibril Mamadou COULIBALY ET SIBY**, chers Maîtres vous avez contribué en grande partie à la réalisation de ce document avec votre franche collaboration. Merci pour vos conseils et vos encouragements. Que Dieu vous assiste.

A tout le personnel du laboratoire de biologie médicale **PA&KA** de Bamako merci pour l'accueil chaleureux.

A tout le personnel de l'unité bactériologie-virologie du laboratoire de biologie médicale **PA&KA** de Bamako merci pour votre accueil, collaboration et disponibilité. Ce travail est le vôtre.

A mes aînés docteurs, mes camarades de la 11<sup>ième</sup> promotion du numérus clausus section pharmacie (**Promotion Feu Moussa HARAMA**), mes ami(e)s, vos conseils et apports ont été précieux.

A Dr Harouna NIANGALY et Youssouf DOUYON en souvenir du beau temps passé ensemble dans la même chambre au point G.

A mes ami(e)s, connaissances et collaborateurs en souvenir de temps passé ensemble.

**Tous ceux d'une façon ou d'une autre qui ont contribué à la réalisation de ce travail,**  
Vous avez toute ma gratitude et ma reconnaissance éternelle.

**HOMMAGES  
AUX  
MEMBERES DU JURY**

Hommage aux membres du jury

A notre Maître et Président du Jury

**Professeur Flabou BOUGOUDOGO**

- **Pharm D, PhD en Microbiologiste**
- **Maitre de Conférences Agrégé en Bactériologie-Virologie**
- **Ancien Directeur de l'INRSP (de 2002 à 2012) actuel INSP,**
- **Professeur Honoraire de la faculté de pharmacie**
- **Officier de l'Ordre du Mérite de la Santé.**

Cher Maître,

C'est un honneur considérable et un réel plaisir que vous nous faites en présidant ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Au-delà de l'éminent professeur que vous êtes, nous avons toujours admiré votre simplicité et votre humanisme.

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider ce jury malgré vos multiples occupations nous a profondément touché. Nous vous prions, cher Maître, d'accepter nos sincères remerciements.

A notre Maître et Juge

**Docteur Ibréhima GUINDO**

- **Pharmacien Microbiologiste**
- **Maître-Assistant de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Chef de Département laboratoire et de recherche biomédicale à l'Institut National de Santé Publique (INSP),**

Cher Maître,

Vous avez été d'un apport indispensable à ce travail par non seulement vos qualités scientifiques mais aussi par votre soutien infaillible pour l'amélioration de la qualité du document.

Votre courtoisie, votre humilité, votre sens du travail bien fait font de vous une référence.

Recevez ici nos sincères remerciements et profondes grâces envers votre personne.

A notre Maître et Juge

**Docteur Youssouf DEMBELE**

- **Médecin Biologiste,**
- **Directeur Adjoint du laboratoire de biologie médicale PA&KA,**
- **Auditeur qualité des laboratoires de biologie médicale selon la norme ISO15189,**
- **Membre de l'association des médecins et pharmaciens biologistes du Mali.**

Cher maître,

Vous nous avez appris les préceptes de la science médicale en générale et celui de la biologie en particulier. Nous avons apprécié en vous en plus de vos qualités scientifiques remarquables, votre modestie et votre bonne humeur.

Nous vous remercions infiniment de votre franche collaboration et d'avoir accepté de juger ce travail. Merci de nous avoir accordé une partie de votre temps et cela malgré vos multiples tâches. Je vous suis très reconnaissant de la spontanéité et de l'amabilité avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail.

Nous vous serons reconnaissant et que DIEU vous le rende en bien.

A notre Maître et Co-directeur

**Docteur Mohamed AG BARAÏKA**

- **Pharmacien Microbiologiste,**
- **Maître -Assistant en Bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Praticien au Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose (CRLD).**

Cher Maître,

Vous avez suivi pas à pas ce travail, prompt à répondre à toutes nos préoccupations et nous guider à chaque étape de sa réalisation.

Lentement, sûrement mais surtout avec rigueur, vous n'avez ménagé aucun effort pour faire de cette thèse ce qu'elle est aujourd'hui.

Votre amour pour le travail bien fait, votre grande humilité et votre dévouement sont quelques-unes de vos qualités qui nous ont marqués. Veuillez recevoir toute notre gratitude.

Puisse le tout puissant ALLAH vous assister dans vos projets et vous donne longue vie.

Amen !

A notre Maître et Directeur de thèse

**Professeur Bourèma KOURIBA**

- **Maître de Conférences Agrégé d'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 Mérieux (CICM).**

Cher Maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de nous confier ce travail.

Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles.

Votre encouragement inlassable, votre gentillesse et votre rigueur scientifique méritent toute admiration. Nous saisissons l'occasion de ce travail pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

Que DIEU le tout puissant vous accorde longue vie. Amen !

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ABTs** : Antibiotiques

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AKN** : Amikacine

**AMC** : Amoxicilline +Acide clavulanique

**AMP** : Ampicilline

**API 20 E** : Appareil pour identification de 20 entérobactéries

**ARNm** : Acide ribonucléique messenger

**ARNt** : Acide ribonucléique de transfert

**BGN-nf** : Bacilles Gram Négatif non fermentaire

**BLSE** : Bétalactamase à spectre étendu

**BMR** : Bactéries multi résistantes

**BN** : Bas Niveau

**BGN** : Bacilles à Gram négatif

**BPO** : Bactéries pathogènes opportunistes

**BPS** : Bactéries pathogènes spécifiques

**Case** : Céphalosporinase

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

**CAZ**: Ceftazidine

**CEF**: Céfalotine

**CEP** : Enterobactérie productrices de Carbapénèmase

**CHLOR** : Chloramphénicol

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CIP** : Ciprofloxacine

**CLSI** : Clinical and Laboratory standards Institut

**CLT** : Colistine

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CSCOM** : Centre de Santé Communautaire

**CSRéf** : Centre de Santé de Référence

**CTX**: Céfotaxime

**CXT** : Cotrimoxazole

**C1G** : Céphalosporine de 1<sup>ère</sup> Génération

**C2G** : Céphalosporine de 2<sup>ème</sup> Génération

**C3G** : Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> Génération

**C4G** : Céphalosporine de 4<sup>ème</sup> Génération

**DHPS** : Dihydroptéroate synthétase

**DRIG** : Gélose de Drigalski

**E-BLSE** : Entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre étendu

**ECA** : Enteribacterial Common Antigen

**ECAD** : *Escherichia coli* à adhésion diffuse

**ECBU** : Examen cytobactériologique des urines

**ECEA** : *Escherichia coli* entéroaggrégatifs

**ECEP** : *Escherichia coli* entéro-pathogènes

**ECET** : *Escherichia coli* entérotoxinogènes

**EHEC** : *Escherichia coli* entérohémorragiques

**EIEC** : *Escherichia coli* entero-invasifs

**ETP** : Ertapenème

**EUCAST**: European Committ on antimicrobial susceptibility testing

**FAPH** : Faculté de pharmacie

**FOS** : Fosfomycine

**FOX** : Céfoxitine

**GEN** : Gentamicine

**GSC** : Gélose au Sang Cuit

**GSF** : Gélose au Sang Frais

**HN** : Haut Niveau ;

**I** : Intermédiaire

**IMP** : Imipenème

**LPS** : Lipopolysaccharides

**N** : Nombre de souche de la bactérie

**NFT** : Nitrofuratoine

**OFLO** : Ofloxacin

**Pase** : Pénicillinase ;

**PLP** : Protéine de liaison à la pénicilline

**PPT**: Pipéracilline +Tazobactam

**PV** : Prélèvement vaginal

**R** : Résistant

**RN** : Résistance Naturelle

**S** : Sensible

**SHU** : Syndrome hémolytique et urémique

**SHV**: Sulphydryl variable

**STEC**: Shiga Toxin *Escherichia coli*

**TIC**: Ticarcilline

**TOB** : Tobramycine

**TRI** : TEM Résistante aux inhibiteurs ;

**USTTB** : Université des Sciences des Techniques, et des Technologies de Bamako.

**2GyrA ParC** : Phénotype double mutations du gène *gyrA* et *parC*.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés .....	9
<b>Tableau II</b> : Classification d'entérobactéries courantes et rares .....	11
<b>Tableau III</b> : Les disques d'antibiotiques testés et leurs charges.....	42
<b>Tableau IV</b> : Répartition des patients selon le sexe .....	60
<b>Tableau V</b> : Répartition des souches d'entérobactérie isolées selon la provenance du patient pendant notre période d'étude. ....	61
<b>Tableau VI</b> : Fréquence des espèces bactériennes de la famille des enterobacteriaceae isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.....	62
<b>Tableau VII</b> : Résistance aux $\beta$ -lactamines des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude. ....	63
<b>Tableau VIII</b> : Résistance aux aminosides des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude .....	64
<b>Tableau IX</b> : Résistance aux fluoroquinolones des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude. ....	64
<b>Tableau X</b> : Phénotype de résistance des bactéries aux différentes familles d'antibiotiques isolées chez les patients en milieu communautaire et hospitalier .....	65
<b>Tableau XI</b> : La prévalence des bactéries multi-résistantes au cours de notre période d'étude .....	66
<b>Tableau XII</b> : Répartition des phénotypes de résistance de l'ensemble des souches d' <i>E. coli</i> et de <i>K. pneumoniae</i> isolées au cours de notre période d'étude.....	66

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae .....	8
Figure 2 : Mécanisme d'action des antibiotiques .....	20
Figure 3 : Vue photographique d'un Mini API.....	52
Figure 4 : Vue photographique d'un Automate VITEK ®2 Compact.....	53
Figure 5 : Image d'identification d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> avec la galerie API 20E.....	56
Figure 6 : Répartition des patients selon les tranches d'âges.....	60
Figure 7 : Répartition des souches étudiées selon le type de prélèvement.....	62

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	xi
REMERCIEMENTS .....	xii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xx
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES FIGURES.....	xxiv
<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>2</b>
<b>2. OBJECTIFS.....</b>	<b>5</b>
2.1. Objectif général.....	5
2.2. Objectifs spécifiques.....	5
<b>3. GENERALITES .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1. Les entérobactéries.....</b>	<b>7</b>
3.1.1. Définition et caractéristiques générales.....	7
3.1.2. Taxonomies .....	10
3.1.3. Caractères bactériologiques .....	12
3.1.3.1. Les caractères morphologiques .....	12
3.1.3.2. Les caractères cultureux .....	12
3.1.3.3. Les caractères biochimiques.....	12
3.1.3.4. Les caractères antigéniques .....	13
3.1.4. Pouvoir pathogène naturel.....	13
3.1.5. Etudes de quelques genres et espèces particuliers.....	14
3.1.5.1. <i>Escherichia</i> .....	14
3.1.5.2. <i>Shigella</i> .....	16
3.1.5.3. <i>Klebsiella</i> .....	17
3.1.5.4. <i>Proteus-Providencia</i> .....	17
3.1.5.5. <i>Salmonella</i> .....	18
<b>3.2. Les antibiotiques.....</b>	<b>19</b>
3.2.1. Définition .....	19
3.2.2. Mécanisme d'action des antibiotiques .....	19
3.2.3. Classification.....	20

3.2.3.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des peptidoglycanes .....	20
3.2.3.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéiques.....	23
3.2.3.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques .....	26
3.2.3.4. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates .....	28
3.2.3.5. Antibiotiques qui provoquent l'altération des membranes.....	29
<b>3.3. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques</b> .....	<b>30</b>
3.3.1. Résistance aux bêta-lactamines .....	30
3.3.2. Résistance aux aminosides .....	34
3.3.3. Résistance aux fluoroquinolones .....	34
3.3.4. Résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatifs....	35
<b>3.4. Conservation des souches</b> .....	<b>35</b>
3.4.1. Principes généraux .....	36
3.4.2. Moyens de conservation.....	36
<b>4. METHODOLOGIE</b> .....	<b>39</b>
4.1. Cadre d'étude .....	39
4.2. Type et période d'étude .....	40
4.3. Population d'étude .....	40
4.4. Critère d'inclusion et non inclusion.....	40
4.4.1. Critère d'inclusion :.....	40
4.4.2. Critère de non inclusion : .....	40
4.5. Taille de l'échantillon.....	40
4.6. Collecte des données.....	40
4.7. Variables étudiées.....	40
4.8. Matériels et méthodes .....	41
4.8.1. Matériels.....	41
4.8.2. Méthodologie de Laboratoire .....	43
4.8.2.1. Etude des produits pathologiques.....	43
4.8.2.2. Identification bactérienne et antibiogramme sur VITEK® 2 Compact .....	52
4.8.2.3. Identification bactériennes sur API 20 E :.....	55
4.9. Saisie et analyses des données .....	58

<b>4.10. Considérations éthiques</b> .....	58
<b>5. RESULTATS</b> .....	60
<b>5.1. Résultats Socio-démographiques</b> .....	60
<b>5.2. Résultats descriptifs</b> .....	63
<b>6. DISCUSSION</b> .....	69
<b>7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS</b> .....	75
<b>8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	78
<b>9. ANNEXES</b> .....	85
<b>10. SERMENT DE GALIEN</b> .....	90



# INTRODUCTION

## **1. INTRODUCTION**

La découverte des antibiotiques a constitué un événement majeur dans l'histoire de la médecine ; leur usage a augmenté l'espérance de vie moyenne d'une quinzaine d'années, en comparaison, un traitement qui guérirait 100% des cancers, n'allongerait l'espérance de vie que de 5 ans [1].

Depuis l'introduction des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique des maladies infectieuses, les microorganismes ont développé des moyens de défense leur conférant une insensibilité aux antibactériens. Toutes les espèces ou germes bactériens sont concernés par le phénomène de la résistance aux antibactériens posant, parfois de véritables problèmes thérapeutiques [2].

La résistance aux antimicrobiens est un problème important dans le monde [3]. Celle des bacilles à Gram négatif aux carbapénèmes est devenue un problème mondial de santé [4]. La dissémination mondiale des entérobactéries productrices de carbapénémase (CEP) est un problème plus récent [5]. La réalité de cette menace a été récemment reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans son rapport de 2014 sur la résistance aux antibiotiques [6]. Des rapports très médiatisés en 2016 ont mis en garde contre les dangers de l'inaction. Près de 700 000 décès dans le monde pourraient être imputables à la résistance aux antimicrobiens [7].

En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance. Les défis majeurs de cette résistance ont été rencontrés principalement chez différentes espèces d'entérobactéries [8].

Elle se diffuse rapidement parmi de nombreux agents pathogènes aussi bien nosocomiaux que communautaires [9].

En Europe les bactéries résistantes aux antibiotiques causent 400.000 infections par an avec au moins 25000 morts annuels [10].

En France, la lutte contre les BMR est une priorité nationale de santé qui implique toute la communauté médicale. Parmi les BMR, les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (E-BLSE), résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G), ont pris une place très importante en raison de leur fréquence élevée et de leur fort potentiel pathogène. Mais c'est aussi leur commensalisme, et le caractère aisément transférable de leurs

mécanismes de résistance qui font des E-BLSE des BMR cible du programme national visant à prévenir et contrôler leur diffusion. [11 ,12].

En Afrique ce phénomène de résistance est mal évalué. Toutefois, des études rapportent que le continent africain n'est pas en marge du phénomène [13].

Au Mali si les maladies infectieuses bactériennes constituent un problème de santé publique, l'absence d'enquête nationale sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en est un autre. On note également une absence de procédures opératoires standards et donc une prescription non consensuelle en matière d'antibiothérapie [14].

Cependant selon une étude menée à l'INSP en 2020, la fréquence élevée de résistance aux antibiotiques des entérobactéries pourrait expliquer par la prolifération préférentielle de certains germes au niveau des voies urinaires et la multiplicité des facteurs favorisants (l'âge, le sexe, l'état du patient) et obtient ainsi 911 souches d'entérobactéries sur 1098 souches de BGN étudiées soit 83% [15]. Pour contribuer à ce problème nous nous sommes proposé de mener cette étude dont le but est d'explorer la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako.

# OBJECTIFS

## **2. OBJECTIFS**

### **2.1. Objectif général**

Explorer la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako.

### **2.2. Objectifs spécifiques**

- 1) Déterminer la fréquence d'isolément des espèces d'entérobactéries dans les différents types de prélèvements au laboratoire PA&KA de Bamako ;
- 2) Décrire la prévalence de la résistance aux antibiotiques des différentes espèces d'entérobactérie isolées au cours de notre période d'étude ;
- 3) Identifier les différents phénotypes de résistance aux antibiotiques des espèces d'entérobactérie isolées ;
- 4) Déterminer la prévalence des bactéries multi-résistantes au cours de notre période d'étude.

# **GENERALITES**

### **3. GENERALITES**

#### **3.1. Les entérobactéries**

##### **3.1.1. Définition et caractéristiques générales**

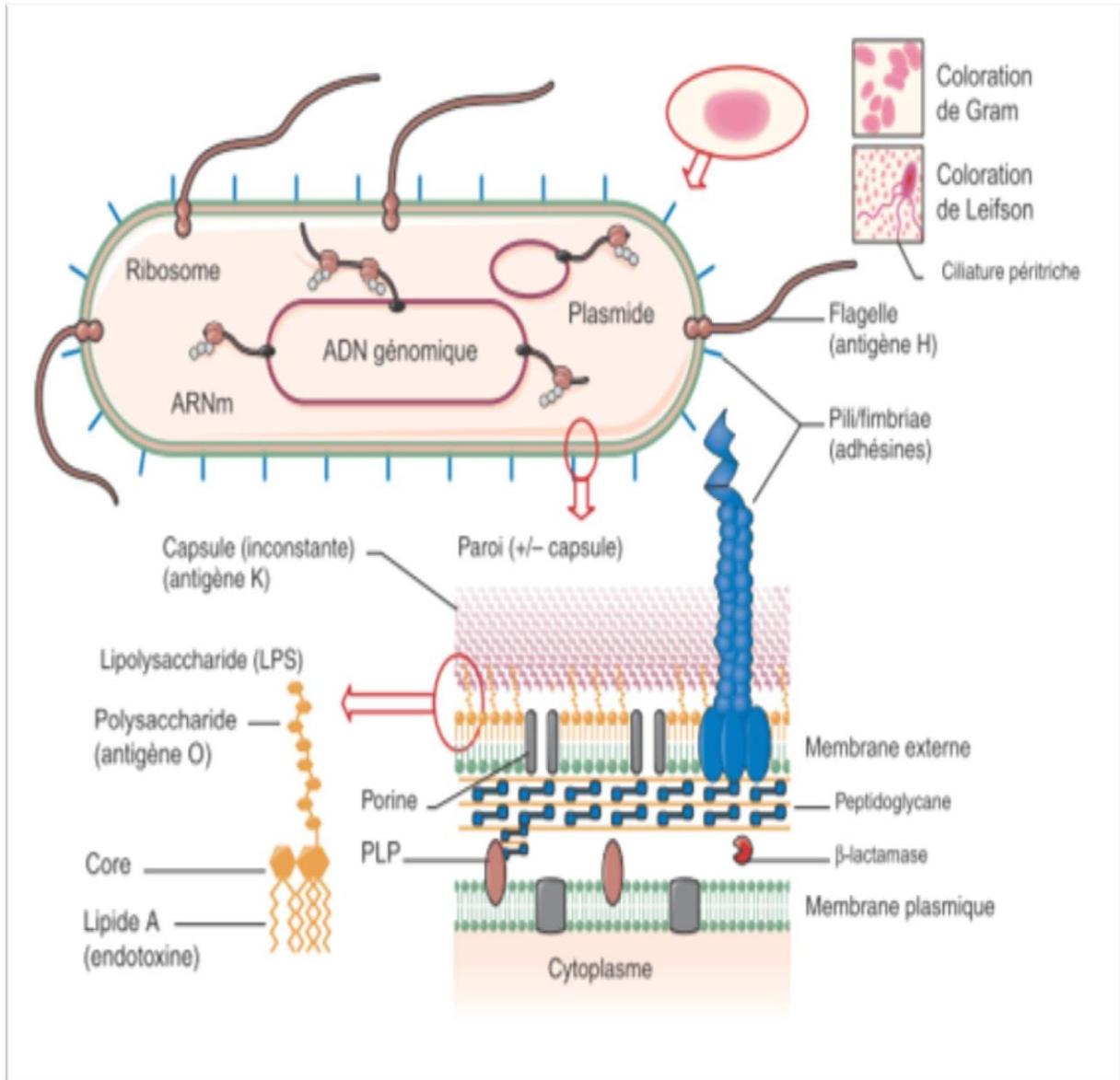
Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupant un grand nombre d'espèces. Au niveau phénotypique, ce sont des bacilles Gram négatif droits ; mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles (**Figure1**) ; non sporulés ; aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose ; pas de besoin en sodium, ni de stimulation ; catalase positive ; oxydase négative ; réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N<sub>2</sub>) ; ARNr 16S de gamma-protéobactéries [16,17].

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis (**Tableau 1**), comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)...etc [18].

Leur principale particularité commune est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Par leur particularité métabolique, certaines entérobactéries participent au cycle naturel des matières organiques, d'autres peuvent coloniser et dégrader des produits agroalimentaires ou encore provoquer des maladies parfois graves chez l'homme ou chez l'animal [16].

La famille présente une grande facilité de culture : les milieux les plus simples (gélose ordinaire) suffisent et le substrat énergétique de base (glucose) est également suffisant. La température optimale de développement se situe entre 24 et 37°C (germes mésophiles) [16].

Toutes les entérobactéries possèdent des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O qui correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) et qui constituent les endotoxines des bactéries à Gram négatif. Les espèces mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagellines. Certaines souches possèdent en plus un antigène K qui masque l'antigène O, et qui correspond à une enveloppe polyosidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux [18].



**Figure 1** : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* [19].

**Tableau I** : Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés [20].

	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Pseudotuberculosis</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+ ou (+)	-	+ ou (+)	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
H <sub>2</sub> S	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
LDC	+	-	-	d	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	d	d	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-
ADH	-	-	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
TDA, PDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Indole	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	+	-	+	+	D	-	-
Citrate de Simmons	+	+	+	-	-	+	+	d*	+	D	d	-	+	+	-	-	-
Malonate	-	-	d	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	d	-	-	-	d*	-	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Gaz/glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	d	d	-	-	-
Mannitol	+	+	+	d	d	+	+	+	+	-	-	-	+	d	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	d	d	+	+	+	-	-	-	-	d	-	-	-	+
Saccharose	-	d	d	d	-	+	+	-	+	+	d	d	-	d	+	-	-
Arabinose	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	d	d
Inositol	d	-	-	-	-	+	d	-	d	-	-	-	+	d	-	-	-
Aldonitol	-	-	d	-	-	+	d	-	d	-	-	-	+	d	-	-	-
Galacturonate	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	d

+ : Résultat positif,

- : Résultat négatif

+\* et d\* : positif à 22°C, négatif à 37°C

d : différents types biochimiques

+\* : positif lent (uréase+ en 18-24 heures)

(+) : positif en 3 à 7 jours

### 3.1.2. Taxonomies [21].

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus fréquemment isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae*. Si le nom de famille est toujours maintenu, en revanche le classement (**Tableau II**) des bactéries dans la famille a beaucoup évolué [22].

Actuellement, les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARNr 5S et 16S dans :

- Domaine : *Eubacteria*.
- Phylum XII : *Proteobacteria*.
- Classe : *Gammaproteobacteria*.
- Ordre : *Enterobacteriales*.
- Famille : *Enterobacteriaceae*.

44 genres dont les genres récents *Alterococcus*, *Arsenophorus*, *Brenneria*, *Pectobacterium*, *Raoultella*, *Samsonia*, *Sodalis* [23].

Les genres de cette famille sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Protea*, *Yersinia* et *Erwinia* [24].

**Tableau II** : Classification d'entérobactéries courantes et rares [23].

Genres	Espèces
<b>Entérobactéries Courantes</b>	<i>Escherichia</i> Six espèces: <i>Escherichia coli</i> ...
	<i>Salmonella</i> <i>Salmonella bongori</i> , <i>S. enterica</i> , <i>S. subterranean</i> ...
	<i>Shigella</i> Quatre espèces : <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. boydii</i> .
	<i>Citrobacter</i> Douze espèces : <i>Citrobacter freundii</i> , <i>C. youngae</i> , <i>C. braakii</i> , <i>C. koseri</i> ...
	<i>Klebsiella</i> Quatre espèces : <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae subsp. ozaenae</i> ...
	<i>Enterobacter</i> Quatorze espèces : <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. sakazakii</i> ...
	<i>Hafnia</i> Espèce unique : <i>Hafnia alvei</i>
	<i>Serratia</i> Onze espèces : <i>Serratia marcescens subsp. marcescens</i> , <i>S. odorifera</i> , <i>S. rubidaea</i> ...
	<i>Proteus</i> Six espèces : <i>Proteus vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> ...
	<i>Morganella</i> Une espèce : <i>Morganella morganii subsp. Morganii</i>
	<i>Providencia</i> Cinq espèces : <i>Providencia alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> ...
	<i>Yersinia</i> Onze espèces : <i>Yersinia pestis</i> , <i>Y. enterocolitica subsp. enterocolitica</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i> ...
	<i>Erwinia</i> Onze espèces
<b>Entérobactéries rare ou récemment décrites</b>	<i>Cedecea</i>
	<i>Ewingella</i>
	<i>Pantoea</i>
	<i>Rahnella</i>
	<i>Budvicia</i>
	<i>Buttiauxella</i>
	<i>Kluyvera</i>
	<i>Leclercia</i>
	<i>Moellerella</i>
	<i>Trabulsiella</i>
	<i>Yokenella</i>
	<i>Edwardsiella</i>
	<i>Leminorella</i>
	<i>Obesumbacterium</i>
	<i>Pragia</i>
<i>Photorhabdus</i>	
<i>Tatumella</i>	
<i>Xenorhabdus</i>	

### 3.1.3. Caractères bactériologiques [21, 23, 24, 25]

#### 3.1.3.1. Les caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de BGN (2-4µm longueur/0.4-0,6 µm largeur), soit mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés et peuvent être capsulés (*Klebsiella*). La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion.

#### 3.1.3.2. Les caractères culturaux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique.

Ainsi on distingue **5 types de colonies** :

- ✓ **Colonies S (smooth)** : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- ✓ **Colonies R (rugueuses)** : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- ✓ **Colonies M (muqueuses)** : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*).
- ✓ **Colonies envahissantes ou nappantes** : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*).
- ✓ **Colonies naines** : Elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques.

Elles ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires.

#### 3.1.3.3. Les caractères biochimiques

Les propriétés qui définissent la famille doivent être mises en évidence pour affirmer que la souche est une entérobactérie. Les caractères d'identification sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc..), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz.

Classiquement, l'identification se déroule dans des tubes, assurant à la fois la croissance et la réaction biochimique. De nouvelles approches à cette méthode notamment par l'élaboration des galeries API 20E, premières galeries mises au point pour les entérobactéries et aussi la création d'automate comme le MINI API.

#### 3.1.3.4. Les caractères antigéniques

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunin ou ECA (Enterobacterial Common Antigen). Il existe trois catégories d'antigènes.

- **Les antigènes O** : Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistants à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement, sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée.

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

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

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

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

#### 3.1.4. Pouvoir pathogène naturel

Sur le plan de la pathologie humaine il convient de distinguer, comme avec les autres espèces bactériennes :

○ **Les bactéries pathogènes spécifiques (BPS)** que l'on ne retrouve pas à l'état commensal (en dehors des porteurs sains) et dont la présence dans les milieux extérieurs n'est qu'un phénomène transitoire.

Les maladies qu'elles engendrent sont dues à un défaut d'hygiène et la contamination se produit soit par contact direct, soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaire ou animal). Citons les *Salmonella*, les *Shigella*, et les *Yersinia*.

○ **Les bactéries pathogènes opportunistes (BPO).**

Ces BPO peuvent provenir de la flore digestive commensale normalement résidente.

Les infections qu'elles peuvent engendrer ont pour origine : Soit un point de départ endogène, ce qui s'explique par leur commensalité, Soit un point de départ exogène.

Il convient alors de distinguer deux aspects :

- l'un est rencontré dans l'hospitalisme infectieux où un défaut d'asepsie permettra la transmission à partir d'un milieu contaminé ou d'un malade, par instrumentation ou par voie manu portée ;
- l'autre s'explique par le fait que ces bactéries de la flore digestive peuvent se retrouver, par élimination, dans la nature à l'état transitoire. Si elles n'engendrent généralement pas d'infections, elles sont cependant le signe d'une contamination fécale, voire d'un défaut d'hygiène. Ce problème est d'une importance toute particulière puisque c'est principalement de la recherche d'espèces commensales telles que *Escherichia coli*, *entérocoques* et *Clostridium perfringens* et de leur absence que dépend la qualité sanitaire d'une eau ou d'un produit alimentaire [28].

Les entérobactéries peuvent représenter 80% des isolats cliniquement significatifs des bacilles gram négatifs et 50% des bactéries cliniquement significatives dans les laboratoires de microbiologie clinique. Ils représentent près de 50% des cas de septicémie, plus de 70% des infections urinaires et un pourcentage significatif d'infections intestinales [29].

### 3.1.5. Etudes de quelques genres et espèces particuliers

#### 3.1.5.1. *Escherichia*

Hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif. Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains. L'espèce *E. coli* présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan pouvoir pathogène [19].

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique [30].

#### ❖ Habitat

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance [20].

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoignent d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation [16].

### ❖ Mode de transmission

Les études d'épidémiologie analytique et les investigations d'épidémies ont permis d'améliorer les connaissances sur les modes de transmission et les sources de contamination des Shiga Toxin *Escherichia coli* (STEC). A l'heure actuelle, les quatre principales voies d'infection à EHEC sont l'ingestion d'aliments, la transmission hydrique (eau de boisson ou de baignade), la transmission interhumaine et le contact avec les animaux de ferme et leur environnement [31].

➤ La majorité des infections est le résultat d'une transmission alimentaire. En effet un grand nombre des infections à *E. coli* O157: H7 a été relié épidémiologiquement à la consommation de denrées animales. La viande de bœuf constitue la source majeure de contamination suite principalement à une cuisson insuffisante [32, 33].

Les épidémies d'origine hydrique sont généralement associées à la consommation d'eau de boisson ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades [31].

➤ Le portage sain humain de STEC existe mais semble rare et transitoire. La majorité des cas résulte d'une contamination indirecte mise en évidence chez les personnes en contact avec les malades [34, 35].

➤ La transmission d'*E. coli* O157: H7 à l'homme, par contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections, a été décrite lors de cas sporadiques mais aussi lors d'épidémies [31].

### ❖ Pouvoir pathogène

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes). Les infections à *E. coli* sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhée et infections extra-intestinales [36, 19].

Les *E. coli* entériques ou intestinaux sont responsables de gastro-entérites infantiles ou de diarrhée des voyageurs [16].

On distingue six pathovars entérovirulents :

- Les ECEP : *E. coli* entéropathogènes responsables de gastro-entérites infantiles. Elles ne sont ni invasives ni toxiques mais peuvent adhérer aux membranes des entérocytes et provoquer la destruction de leurs microvillosités. S'ensuit une diarrhée aqueuse importante mais autolimitée [19, 16].

- Les ECET : *E. coli* entérotoxigènes sont une cause fréquente de diarrhée chez les enfants dans les pays en voie de développement. Ils sont aussi régulièrement responsables de la diarrhée du voyageur [37].
- Les EIEC : *E. coli* entéro-invasifs encore appelés *Escherichia coli* shigella-like, responsables de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale [38].
- Les EHEC : *E. coli* entérohémorragiques responsables d'épidémies de diarrhées sanglantes d'origine alimentaire pouvant se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant par production de Shiga toxines [19].
- Les ECEA : *E. coli* entéroaggrégatifs provoquent une diarrhée persistante chez les enfants, particulièrement dans les pays en voie de développement [37].
- Les ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse qui seraient responsables de diarrhées aqueuses chez l'enfant [19].

Les *E. coli* extradiigestifs (extra-intestinaux), sont responsables d'infections urinaires (*E. coli* uropathogènes), de septicémies, prostatites, méningites... Ces germes ne produisent pas d'entérotoxines et n'entraînent pas l'apparition de diarrhées [16].

### 3.1.5.2. *Shigella*

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles sont responsables de l'historique « dysenterie bacillaire » qui décimait les armées en campagne.

Ces bactéries furent décrites la première fois par Chantemesse et Widal en 1888. Ils avaient isolé des selles de malades présentant un syndrome dysentérique [20].

Nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897 [39].

Bien que faisant partie sur le plan génétique de l'espèce *Escherichia coli*, le genre *Shigella* a été conservé dans la taxonomie pour des raisons médicales. Ce genre comprend quatre « espèces » ou sous-groupes A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs serotypes :

- Groupe A, *S. dysenteriae* avec 15 serotypes ;
- Groupe B, *S. flexneri* avec 6 serotypes ;
- Groupe C, *S. boydii* avec 18 serotypes ; et
- groupe D, *S. sonnei* avec un seul serotype [19].

### ❖ Habitat

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains [40].

Ils peuvent survivre relativement longtemps dans le milieu externe : 10-11 jours dans les matières fécales, 8 jours sur les vêtements des malades et 2-3 jours dans l'eau [16].

### ❖ Mode de transmission

La transmission est directe ou indirecte par voie fécale-orale à partir d'un malade ou d'un porteur. Les mauvaises pratiques d'hygiène contribuent à propager l'infection de façon directe par contact physique ou de façon indirecte par contamination des aliments.

La transmission par l'eau, le lait, les blattes et les mouches peut survenir par suite de la contamination fécale directe. La dose infectante est généralement comprise entre 10 et 100 bactéries [39, 16].

### ❖ Pouvoir pathogène

*S. dysenteriae* type 1 ou bacille de Shiga est l'agent de la dysenterie bacillaire *strictosensu* [19].

Les autres sérotypes provoquent des colites infectieuses chez l'adulte et des gastroentérites chez l'enfant. Les *Shigella* provoquent des ulcérations de la muqueuse intestinale et une réaction inflammatoire. En conséquence, les selles sont sanglantes avec des leucocytes, des glaires et des fausses membranes, douleurs abdominales, épreintes et ténésme caractérisent le syndrome dysentérique. Les localisations extra-digestives sont peu fréquentes.

Les moins rares sont les infections urinaires. On observe parfois des formes bactériémiques, des arthrites, des méningites [41].

#### 3.1.5.3. *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine.

#### 3.1.5.4. *Proteus-Providencia*

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les deux caractères suivants : Présence d'un tryptophane désaminase ; Envahissement constant de la gélose nutritive. Ce sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer

des infections très diverses : entérites, cystites, otites, méningites. Ces infections sont de plus en plus fréquentes.

### 3.1.5.5. *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries, pour la plupart pathogènes pour l'homme, agent de nombreuses infections comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, de gastro-entérites et de toxi-infections alimentaires parfois collectives. Ces maladies sont à déclaration obligatoire [16].

Les hybridations ADN/ADN ont démontré que toutes les souches de salmonelles appartenaient à deux espèces, *Salmonella enterica* et *Salmonella bongorii*, qui est exceptionnellement isolée chez l'homme. L'espèce *S. enterica* est divisée en six sous-espèces [19].

#### ❖ Habitat

Le réservoir naturel est constitué par le tube digestif des espèces contaminées : mammifères (y compris l'homme), volailles, reptiles, escargots, grenouilles, animaux de compagnie (chiens et chats). Les déjections de ces espèces peuvent contaminer le sol et/ou l'eau. Si elles ne peuvent s'y multiplier de manière significative, elles peuvent y survivre, en particulier dans le sol, pendant plusieurs semaines ou même plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables [16, 20].

#### ❖ Mode de transmission

Les salmonelles sont éliminées par les matières fécales, et de manière inconstante par les urines. La maladie est contractée par absorption d'eau ou d'aliments contaminés, directement ou indirectement, par des excréments [20].

#### ❖ Pouvoir pathogène

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes à l'intérieur du genre *Salmonella* :

- Les salmonelles majeures, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes – *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B, *S. paratyphi* C. Ces sérovars sont responsables de septicémies à point de départ lymphatique par envahissement des ganglions mésentériques.
- Les autres sérovars « mineurs » habituellement responsable de toxi-infections alimentaires qui se manifestent par des gastro-entérites avec diarrhées et vomissements survenant dans les 8 à 10 heures suivant l'injection de l'aliment contaminant et dont l'évolution est en règle spontanément favorable dans quelques jours [19].

## **3.2. Les antibiotiques**

### **3.2.1. Définition**

Les antibiotiques sont des molécules chimiques ou de synthèses capables de détruire les microorganismes ou du moins de limiter de manière significative leur multiplication. Ce terme est généralement réservé aux molécules dont l'action est antibactérienne (bactéricides ou bactériostatiques) [16].

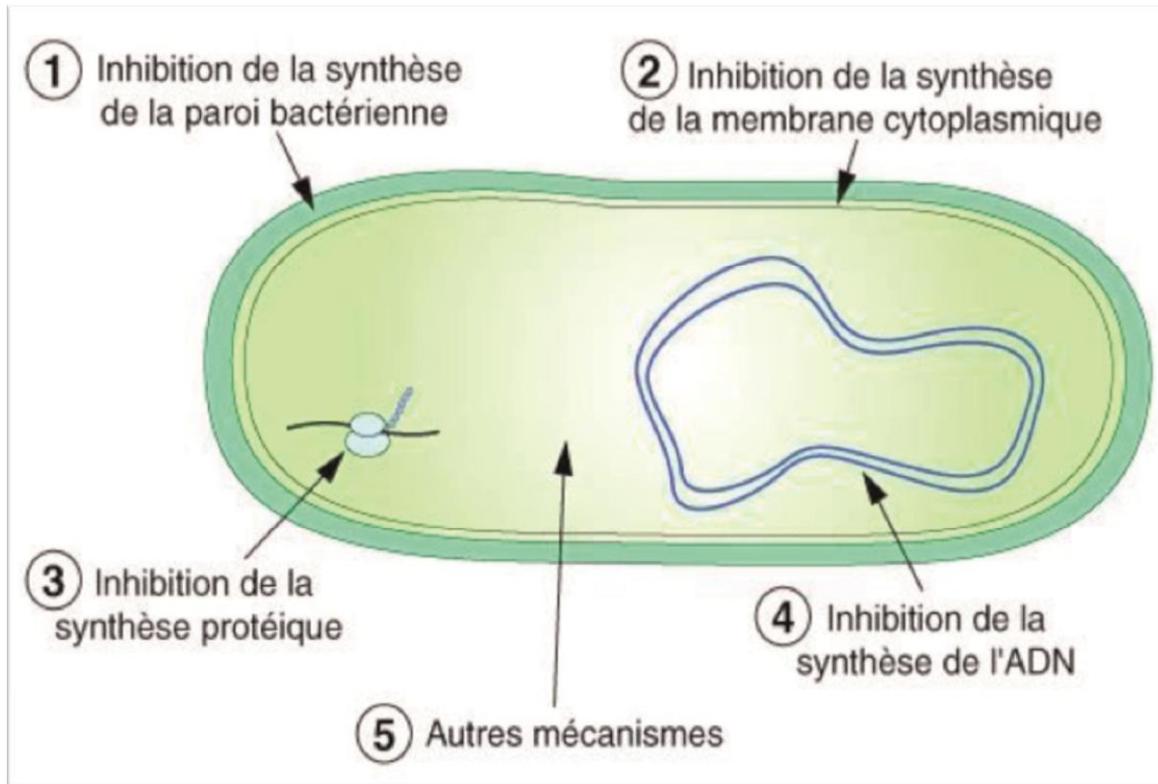
Ils agissant spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) [42].

### **3.2.2. Mécanisme d'action des antibiotiques**

Les antibiotiques, contrairement aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises (Figure 2) telles que la synthèse de la paroi (betalactamines, glycopeptides, fosfomycine), la réplication/transcription de l'ADN (4-quinolones, rifampicine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracycline, macrolides et apparentés, chloramphénicol) ou encore la respiration cellulaire (polymyxines, daptomycine).

Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires [43].

Les antibiotiques les plus utilisés pour lutter contre les infections humaines interfèrent avec les réactions structurales ou physiologiques qui sont particulières aux pathogènes infectieux. Ceci est possible car les bactéries sont physiologiquement très différentes des eucaryotes. Par conséquent, les antibiotiques antibactériens peuvent exploiter ces différences et détruire les « envahisseurs » sans dommages significatifs à l'hôte-humain [44].



**Figure 2 :** Mécanismes d'action des antibiotiques [45].

### 3.2.3. Classification

Il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques. Le plus courant prend en compte leur mode d'action sur les agents infectieux : certains antibiotiques attaquent la paroi ou la membrane cellulaire, alors que d'autres inhibent la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Un autre système consiste à classer les antibiotiques en fonction des souches bactériennes qu'ils détruisent (staphylocoques, streptocoques, etc.). On peut aussi les classer en fonction de leur structure chimique. Les différentes familles sont alors les  $\beta$ -lactamines, les aminosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfamides.

[Microsoft® Encarta® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation]

#### 3.2.3.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des peptidoglycanes [27, 46].

Les bétalactamines

Elles sont des acides plus ou moins forts qui traversent difficilement la membrane bactérienne. Elles ont une action bactéricide.

- Classification des  $\beta$ -lactamines

La classification des bêta-lactamines se base sur la structure du noyau de base, qui comporte toujours le cycle bêta-lactame, permet de répartir ces produits en trois grands groupes : les

dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique, les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et les monobactames.

○ **Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique**

Leur noyau de base associe un cycle bêta-lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des pénicillines. Il intègre le grand groupe des bêta-lactamines ayant un noyau péname caractéristique des pénicillines, parmi lesquelles il y a lieu de distinguer au moins sept sous-groupes. Ce sont les phénoxy-pénicillines et analogues de la pénicilline G, la méthicilline et les isoxazolyl-pénicillines, les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les acyluréidopénicillines, les amidinopénicillines, les pénicillines sulfonées et les méthoxycarboxy-pénicillines. D'autres bêta -lactamines ont un noyau qui dérive du noyau péname par substitution du soufre en position 1 :

- La substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un oxygène est à l'origine du noyau clavame, l'acide clavulanique.
- La substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un atome de carbone est à l'origine du noyau pénème ; les carbapénèmes les plus connus sont l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème.

○ **Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique**

Leur noyau de base associe un cycle bêta-lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-amino-céphalosporanique (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. Suivant les substituant en R3 et R4, on distingue les céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes.

Les céphalosporines sont classées par génération :

- **Les céphalosporines de première génération** : Céfaclor, Céfadroxil, Céfalexine, Céfalotine, Céfatrizine, Céfazoline, Céfradine.
- **Les céphalosporines de deuxième génération** : comprennent le céfuroxile, le céfamandole, les céphamycines comme la céfoxitine et le céfotétan leur sont rattachées du fait de leur spectre très proche, à certaines entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu.
- **Les céphalosporines de troisième génération** : Céfotaxime, céftazidime, ceftriaxone, céfopérazone.
- **Les Céphalosporines de quatrième génération** : Comprennent le Céfépime, Cefpirome qui ont un spectre large, avec une activité améliorée sur les germes Gram positif et une stabilité face aux bêta-lactamases.

## ❖ Monobactames

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique azétidine, limité au cycle bêta-lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit.

### - Mécanisme d'action

Très tôt dans l'étude des mécanismes d'action des bêta-lactamines, il est apparu que leur effet antibactérien est dû en grande partie à une interférence avec le métabolisme de la paroi cellulaire et en particulier, avec celui de son principal constituant structural, le peptidoglycane, qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif composé de chaînes linéaires de N-acétyl-D-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique. Ces chaînes polysidiques sont reliées entre elles par de courtes chaînes de tétrapeptides qui contiennent de la L-alanine, de l'acide D-glutamique, de la L-lysine et de la D-alanine.

### • Synthèse du peptidoglycane

La formation du peptidoglycane est un phénomène complexe en raison du nombre important d'étape mise en jeu et de leur compartimentation dans des sites cellulaires distincts : cytoplasme, membrane cytoplasmique et périplasme. Les étapes cytoplasmiques conduisent à la formation de l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide à partir de l'UDP-Nacétylglucosamine. Le motif phospho-N-acétylmuramyl-pentapeptide est ensuite transféré à un décaprényl phosphate, puis il y a introduction d'un résidu de N-acétylglucosamine. Le précurseur membranaire ainsi formé sert de substrat pour les étapes de polymérisations, qui ont lieu à l'extérieur de la membrane cytoplasmique et qui comprennent des réactions de transglycosylations conduisant aux pontages entre sous-unités peptidiques.

### • Action des $\beta$ -lactamines sur la bactérie

Les bêta-lactamines inhibent les transpeptidases et les carboxypeptidases parce qu'elles possèdent une analogie structurale avec le substrat naturel de ces enzymes et se fixent par une liaison covalente sur des cibles spécifiques, les PLP (protéine de liaison à la pénicilline) ce qui inhibe la transpeptidation et la synthèse du peptidoglycane. Une fois fixé sur les PLP, les bêta-lactamines provoquent une déstructuration du peptidoglycane et la libération de l'acide lipoteichoïque qui mettent en jeu le système autolytique bactérien.

## ❖ Fosfomycines

C'est un antibiotique dérivé de l'acide fosfonique.

### - Mécanisme d'action

Il exerce un effet bactéricide en détruisant la bactérie par inhibition de la première étape de la synthèse de la paroi cellulaire (inhibition de la pyruvyl-transférase).

- **Spectre d'action**

Il possède un large spectre antibactérien comprenant les germes Gram négatifs et Gram positifs, y compris les germes habituellement responsables d'infections urinaires : *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*.

❖ **Bacitracine**

Elle est un surfactif polypeptide cyclique (peptolide). Elle est une substance très toxique.

- **Spectre d'action**

Le spectre inclut les bactéries Gram positif (surtout *Staphylococcus aureus*).

- **Mécanisme d'action**

Elle interfère avec les phospholipides de la paroi bactérienne et perturbe la perméabilité membranaire en empêchant la déphosphorylation du phospholipide indispensable à la synthèse du peptidoglycane.

**3.2.3.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéiques**

❖ **Aminosides ou Aminoglycosides [27, 46].**

- **Définition**

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, qui présentent un large spectre, bactéricides, constituées de plusieurs cycles substitués par des fonctions amines notamment et dont certains sont des cycles sucrés. Ces composés sont largement employés en thérapeutique dans le traitement des infections bactériennes sévères, principalement en milieu hospitalier.

- **Classification des aminosides**

Les aminosides sont classés selon la position des sucres *fixés* sur le cycle désoxystreptamine.

- Substitution en 4-5 : néomycine, paromomycine, lividomycine, ribostamycine et butyrosine.
- Substitution en 4-6 : ici se situent tous les aminosides essentiels, parmi lesquels on peut rapprocher, en fonction des analogies de formules, kanamycine, tobramycine, dibékacine et amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine.
- Autres aminosides : spectinomycine, apramycine, fortimicines, kasugamycine ces trois derniers ne sont pas utilisés en thérapeutique humaine.

- **Mécanisme d'action des aminosides**

Le transport des aminosides à l'intérieur des bactéries est un processus requérant de l'énergie et que l'on peut décomposer en trois étapes successives.

- **Première étape :** Très rapide non spécifique et réversible, elle aboutit à la fixation des aminosides, molécules fortement cationiques, sur des structures anioniques externes de la membrane cytoplasmique et ce via les interstices du peptidoglycane chez les Gram positif, par des pores ou par dislocation du lipopolysaccharide chez les Gram négatif.
- **Deuxième étape :** Elle requiert une énergie métabolique délivrée par un gradient entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule et cette étape peut être bloquée par mutation. Elle peut également être perturbée, si les conditions strictes exigées par la production d'énergie oxydatif pour le transport des aminosides ne sont pas respectées.
- **Troisième étape :** Elle est rapide. Les aminosides se fixent sur le ribosome et provoquent la fixation d'un ARNt incorrect sur l'ARNm, ce qui perturbe la reconnaissance codon-anticodon et induit la synthèse de protéines erronées.

- **Spectre d'action**

Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (*Listeria*).

L'action est inconstante sur les cocci en général. Ils sont actifs sur les *Staphylococcus aureus* sécréteurs de pénicillinase, sur les cocci à Gram négatif, *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhoeae*.

Ces antibiotiques sont inactifs sur les streptocoques, pneumocoques, les entérocoques et les bactéries anaérobies.

**Cas particulier :** la streptomycine est active sur les mycobactéries. Elle est réservée pour le traitement de la tuberculose (toxicité auditive).

❖ Les tétracyclines ou Cyclines [46, 47].

- **Définition**

Les tétracyclines sont bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité.

On distingue les cyclines naturelles et les cyclines semi-synthétiques.

**Cyclines naturelles**

- Chlortétracycline (Auréomycine®)
- Tétracycline base (Tétracyne ®)

**Cyclines semi-synthétiques**

- Oxytétracycline (Terramycine®),
- Doxycycline (Vibramycine®),
- Minocycline (Mynocine®).

La doxycycline et la minocycline ont une meilleure activité in vitro et sont actives sur les souches bactériennes résistantes aux cyclines naturelles. Elles ont, de plus, une meilleure absorption digestive et une plus longue durée d'action.

- **Mécanisme d'action**

Le mécanisme d'action des tétracyclines réside dans l'inhibition des synthèses protéiques. De nombreuses preuves expérimentales, notamment en systèmes acellulaires, ont été obtenues. Le mécanisme intime de cette action paraît être l'inhibition de la fixation du complexe aminoacide-ARNt synthétase sur le complexe ribosome-messenger.

- **Spectre d'action**

C'est avec les tétracyclines qu'est apparu le terme "à très large spectre".

• **Bacilles à Gram négatif et autres bactéries**

Les tétracyclines sont indiquées pour le traitement des pasteurelloses, brucelloses, chlamydioses, coxielloses, rickettsioses, infections à Mycoplasmes, spirochètoses (*Treponema*, *Leptospira* et *Borrelia*).

Cocci à Gram positif sont souvent résistants,

• **Bacilles à Gram positif**

Les tétracyclines ont une bonne activité sur la majorité des bacilles à Gram positif aérobies et anaérobies sporulés. Cependant, la sensibilité in vitro doit être vérifiée.

• **Bactéries à Gram négatif**

- ✓ Les tétracyclines restent actives sur *Neisseria gonorrhoeae*, bien que des résistances aient été décrites (*Neisseria gonorrhoeae* résistant aux tétracyclines).
- ✓ Les *Yersinia*, *Haemophilus*, *Bordetella pertussis* et *Francisella tularensis* sont toujours sensibles ainsi que les *Vibrionaceae* et *Burkholderia pseudomallei*
- ✓ *Gardenerella vaginalis* est encore sensible aux tétracyclines bien que 25% d'entre eux soient résistants.
- ✓ La résistance acquise est élevée pour les entérobactéries, cependant les souches hospitalières sont le plus souvent résistantes et présentent une résistance croisée avec l'ampicilline et le chloramphénicol, en ce qui concerne les salmonelles.
- ✓ *Legionella pneumophila* ainsi que les Bacteroides sont résistants.

- **Parasites**

Les tétracyclines sont actives sur *Plasmodium falciparum* avec un effet synergique avec la quinine. *Candida albicans* est sensible à la minocycline

### ❖ Phénicolés : Chloramphénicol et Thiamphénicol

#### - Définition :

**Chloramphénicol** : Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre.

**Thiamphénicol** : Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire.

#### - Mécanisme d'action

Cet agent bactériostatique à large spectre se fixe à la sous-unité 50 S et inhibe la transpeptidation dans la synthèse des protéines.

#### - Spectre d'activité

Les phénicolés, étant de petites molécules hydrophobes, traversent facilement la membrane externe et interne des bactéries à Gram négatif.

Ainsi le spectre d'activité est très large englobant les bacilles à Gram positif, les bacilles à Gram négatif, les cocci à Gram positif et les cocci à Gram négatif.

En general, ces molécules sont réservées aux traitements des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et dans certains cas de méningites purulentes à *Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae* lorsque des molécules moins toxiques ne sont pas disponibles.

### 3.2.3.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

#### ❖ Quinolones [48, 30, 47].

#### - Définition

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité.

Parmi eux, les fluoroquinolones qui sont actives notamment sur les bacilles à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Elles sont largement prescrites dans les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningées, abdominales... etc., en particulier au cours d'infections à bacilles à Gram négatif aérobies.

#### - Classification

Elles sont classées en 3 générations :

#### • Les anciennes quinolones :

Nous pouvons citer : l'acide nalidixique, l'acide pipémidique, l'acide piromidique, l'acide oxolinique, la cénoxacine et la fluméquine.

- **Les nouvelles quinolones (fluoroquinolones) :** Parmi celles-ci, nous distinguons : la péfloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin, la ciprofloxacine, la loméfloxacin, la sparfloxacin et l'énoxacin etc...

- **Mécanisme d'action**

Les quinolones inhibent les activités de super-enroulement de la gyrase, une enzyme impliquée dans la réplication de l'ADN. Ce sont des antibiotiques bactéricides.

- **Spectre d'activité**

- Le spectre des produits les plus anciens est limité aux bactéries à Gram négatif, à l'exception du bacille pyocyanique.
- Les fluoroquinolones possèdent une activité intrinsèque supérieure et ont un spectre élargi au bacille pyocyanique et aux bactéries à Gram positif, notamment les staphylocoques. Les quinolones sont bactéricides.

- ❖ **Rifamycines [48, 46].**

- **Définition :**

Les principales rifamycines du marché sont la rifampicine, la rifabutine et la rifamycine SV.

- **Le mécanisme d'action**

Elles sont bactéricides. Elles se fixent sur l'ARN polymérase en formant un complexe irréversible. Ainsi elles inhibent la RNA-polymérase bactérienne et bloquent la formation de l'ARN messenger.

- **Spectre d'activité**

La Rifamycine SV et la Rifampicine sont bactéricides ; elles ont une excellente activité sur les germes à Gram positif (*Staphylococcus* et entérocoques). La rifampicine est réservée au traitement de la tuberculose.

- ❖ **Nitrofuranes**

Selon la structure chimique on distingue :

- Le Nifuroxazide (Ercefuryl®),
- Le Nitrofurzide (Furadantine®).

- **Mécanisme d'action**

Les nitrofuranes agissent en perturbant la réplication de l'ADN.

- **Spectre d'activité**

Les nitrofuranes à visée intestinale :

Les bacilles à Gram négatif, entérobactéries.

Nitrofuranes à visée urinaire :

Actifs sur la majorité des entérobactéries. Ces antibiotiques sont inactifs sur *Pseudomonas aeruginosa*, les *Proteus*, *Serratia* et *Acinetobacter*.

### 3.2.3.4. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates [46].

#### ❖ Sulfamides

##### - Définition

En 1935, Domagk montra qu'un colorant utilisé dans l'industrie des teintures, la sulfamidochrisoïdine (Prontosil® ou Rubiazol®) guérissait la souris infectée par un streptocoque. L'année suivante, l'application en fut faite avec succès avec des femmes atteintes de fièvre puerpérale. Ils sont utilisés seuls ou utilisés en association avec d'autres molécules.

##### - Mécanisme d'action

Il a été élucidé dès 1940 par Woods et Fildès, qui ont à ce propos défini le principe de l'inhibition d'un métabolite essentiel par des analogues structuraux. En raison de la similitude de leur structure avec celle de l'acide para-amino-benzoïque, les sulfamides se comportent en inhibiteurs compétitifs de ce dernier dans la synthèse des folates. Ils bloquent la dihydroptéroate synthétase (DHPS). Rappelons que le rôle des folates est fondamental dans les réactions de transfert des radicaux monocarbonés (formyl, formaldéhyde, hydroxyméthyl), réactions en pratique essentielles pour la synthèse des bases puriques et de la thymidine, donc des acides nucléiques, de la méthionine, de l'acide glutamique ; l'acide tétrahydrofolique est le composé essentiel qui joue le rôle de plaque tournante de ces différents métabolites.

##### - Spectre d'activité

Il est théoriquement large :

- La majorité des bactéries à Gram positif et négatif.
- Mais nombreuses sont actuellement les souches bactériennes résistantes ; la résistance s'étend à tous les sulfamides.

#### ❖ Triméthoprimes

##### - Définition

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

##### - Mécanisme d'action

Le triméthoprime agit dans le blocage enzymatique de la synthèse des folates, juste après les sulfamides. L'association "sulfamide + triméthoprime" la plus utilisée est le cotrimoxazole (Bactrim®). Les deux molécules bloquent la synthèse des folates à deux stades différents, ce

qui renforce leurs activités antibactériennes. L'intérêt de cette association est que les mutants résistants aux deux composants apparaissent moins rapidement et l'association à un effet bactéricide

- **Spectre d'activité**

Cocci à Gram positif

- *Staphylococcus aureus* reste sensible à l'association alors que les *Staphylococcus* coagulase négative sont souvent résistants,
- *Enterococcus faecalis* et le streptocoque du groupe A doivent être considérés comme résistants
- Les streptocoques B, C et G sont le plus souvent sensibles ainsi que *Streptococcus pneumoniae*.

Bacilles à Gram positif

- *Listeria*, Actinomycètes sont sensibles,
- *Clostridium* est résistant, Cocci à Gram négatif *Neisseria meningitidis* est naturellement résistant au triméthoprim et a une sensibilité variable au sulfaméthoxazole.

Bacilles à Gram négatif

- Entérobactéries : sensibilité variable,
- *Haemophilus*, *Legionella*, *Burkholderia pseudomallei* et *Burkholderia cepacia* sont sensibles.

### 3.2.3.5. Antibiotiques qui provoquent l'altération des membranes [48].

❖ **Les polymyxines :**

Elles appartiennent à la classe des polypeptides cycliques et sont extraites de *Bacillus polyxema*.

- **Classification**

On distingue 5 types de polymyxines :

- ✓ polymyxine A,
- ✓ polymyxine B,
- ✓ polymyxine C,
- ✓ polymyxine D,
- ✓ polymyxine E (colistine).

Les polymyxines A, D, C sont trop toxiques ; c'est pour cette raison que seules les polymyxines B et E sont utilisées.

- **Mécanisme d'action**

Les polymyxines pénètrent dans la bactérie et se fixent sur les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques. Ceci entraîne la désorganisation de celles-ci.

- **Spectre d'activité**

Elles sont actives contre les germes Gram négatif : *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Shigella*...

**3.3. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques**

La sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques est variable en fonction de l'espèce (résistance naturelle) et de la souche (résistance acquise).

La résistance peut toucher toutes les familles d'antibiotiques habituellement actives sur les entérobactéries. Elle résulte de quatre mécanismes : imperméabilité, efflux, modification de la cible de l'antibiotique (PLP), production d'enzyme [49].

**3.3.1. Résistance aux bêta-lactamines [49].**

○ **Résistance naturelle ou phénotypes « sauvages »**

Les entérobactéries produisent naturellement diverses bêta-lactamases ce qui permet de les classer en quatre groupes phénotypiques de résistance.

**Groupe 0 : phénotype « sensible » d'espèces dépourvues de gène de bêta-lactamase.**

*Salmonella spp* et *P. mirabilis* sont dépourvus de bêta-lactamase à l'état « sauvages » et sont naturellement sensibles aux aminopénicillines, carboxy-pénicillines, uréïdopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes.

**Groupe 1 : phénotype « sensible » d'espèces produisant naturellement une céphalosporinase de classe C**

Comme les espèces précédentes. *E. coli* et *Shigella spp* sont naturellement sensibles aux aminopénicillines, carboxypénicillines, uréïdopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Cependant, elles produisent à très bas niveau une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC (groupe fonctionnel 1) qui peut entraîner, chez certaines souches, une réduction de sensibilité aux aminopénicillines, à leurs associations au clavulanate et/ou aux C1G. La fréquence du phénotype « sauvage » chez *E. coli* est en moyenne de 50% en milieu hospitalier.

**Groupe 2 : phénotype « pénicillinase de bas niveau »** *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermanni* produisent naturellement et de façon constitutive des enzymes chromosomiques de classe A sensibles aux inhibiteurs :

- SHV-1 (groupe fonctionnel 2b) ou LEN-1 (groupe 2a) pour *K. pneumoniae*,
- Les enzymes de type OXY (groupe 2be) pour *K. oxytoca*,
- Les enzymes CKO pour *C. koseri*,
- L'enzyme CdiA (groupe 2b) pour *C. amalonaticus*,
- L'enzyme HER-1 (groupe 2b) pour *E. hermanni*

Elles confèrent une résistance patente aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines et souvent inapparente aux uréidopénicillines. Ce phénotype de résistance, appelé « pénicillinase de bas niveau », se caractérise par la persistance d'un diamètre d'inhibition autour des disques d'aminopénicillines (contrairement au phénotype « pénicillinase de haut niveau ou pénicillinase acquise » caractérisé par l'absence de diamètre d'inhibition autour de ces disques). Les associations pénicilline- inhibiteur sont actives.

**Règles de lecture interprétative :** La résistance aux pénicillines et tout particulièrement aux uréidopénicillines, peut être de bas niveau. Tous les résultats « sensibles » doivent être interprétés « intermédiaires » pour ces molécules chez les espèces appartenant au groupe 2.

### **Groupe 3 : phénotype « céphalosporinase de bas niveau »**

Les entérobactéries appartenant à ce groupe réunissent des espèces productrices de céphalosporinases de classe C (AmpC, groupe fonctionnel 1) chromosomiques et inductibles par les Bêta-lactamines (molécules fortement inductrices : céfoxitine, imipénème, clavulanate). Ces céphalosporinases sont très répandues chez les entérobactéries isolées en bactériologie clinique : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* (et les autres espèces de ce genre), *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri* et *Pantoea agglomerans*.

Le phénotype « sauvage » de ces espèces, souvent appelé « céphalosporinase de bas niveau » comprend une résistance aux aminopénicillines, à leurs associations aux Bêta-lactamines inhibitrices et aux C1G. Le comportement vis-à-vis des C2G et des céphamycines permet de répartir les espèces en 3 sous-groupes :

- (i) les espèces sensibles au céfuroxime (C2G) et à la céfoxitine (céphamycine) : *H. alvei*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *P. agglomerans* ;
- (ii) les espèces plus résistantes à la céfoxitine qu'au céfuroxime : *E. cloacae*, *E. aerogenes* et *C. freundii* ;
- (iii) les espèces plus résistantes au céfuroxime qu'à la céfoxitine : *S. marcescens* et *M. morganii*.

La fréquence du phénotype « sauvage » est variable selon l'espèce et la situation épidémiologique du moment où du lieu considéré. Le phénotype sauvage est cependant plus fréquent chez les espèces *H. alvei*, *P. rettgeri*, *Providencia spp* et *M. morgani* (65 à 85%) que chez *C. freundii*, *E. cloacae* et *E. aerogenes* (38 à 65%). Les espèces *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* appartenaient initialement à ce groupe. Pour des raisons phénotypiques et moléculaires, il est plus cohérent de les inclure dans un nouveau groupe 5 correspondant au phénotype « céfuroximase ».

#### **Groupe 4 : phénotype Céphalosporinase inducible**

*Y. enterocolitica* et *S. fonticola* produisent naturellement une céphalosporinase inducible de classe C (groupe fonctionnel 1) et une enzyme de classe A. Chez *Y. enterocolitica*, ce dernier est une pénicillinase constitutive de classe A produite à bas niveau (groupe fonctionnel 2b). Chez *S. fonticola*, l'enzyme de classe A est une bêta-lactamase inducible de la classe 2be (SFO-1 et apparentées).

*Y. enterocolitica* est résistante aux aminopénicillines, à leur association avec le clavulanate, aux carboxypénicillines et aux C1G. La résistance aux uréidopénicillines n'apparaît pas in vitro. Le phénotype de résistance de *S. fonticola* est similaire. Cependant, le céfuroxime n'est pas actif et la résistance à l'association aminopénicilline- bêta-lactamine inhibitrice, qui devrait normalement être induite par l'enzyme AmpC, ne s'exprime pas ou à très bas niveau in vitro

#### **Groupe 5 : phénotype « céfuroximase »**

*P. vulgaris* et *P. penneri* produisent naturellement une céphalosporinase de classe A inducible par les bêta-lactamines souvent appelée céfuroximase (groupe fonctionnel 2e). Le phénotype se caractérise par une résistance aux aminopénicillines, aux C1G, aux C2G (céfuroxime, céfamandole) à l'exception des céphamycines (céfoxitine) et une sensibilité aux associations pénicillines-bêtalactamines inhibitrices.

#### **Groupe 6 : phénotype « Bêta-lactamase à spectre étendu chromosomique »**

Les entérobactéries *Kluyvera ascorbata*, *Kluyvera cryocrescens*, *Kluyvera georgiana*, *Rahnella aquatilis*, *Citrobacter sedlakii* et *Erwinia persicina* produisent naturellement des bêta-lactamases à spectre étendu de classe A (groupe 2be). Ces BLSE souvent exprimées à bas niveau confèrent une diminution de sensibilité ou une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux C1G et aux C2G, à l'exception de céphamycines. La résistance aux uréidopénicillines et aux C3G est souvent inapparente. Aucune règle de lecture interprétative n'a été proposée à ce jour pour ces espèces. L'activité des enzymes produites

suggère une interprétation des résultats « sensibles » en « intermédiaire » pour les pénicillines, de même pour les C3G si le test de synergie est positif.

○ **Résistance acquise ou phénotypes « résistants »**

A la résistance naturelle aux bêta-lactamines peuvent s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise. La résistance acquise par production de bêta-lactamase est le mécanisme prépondérant. Cependant, la fréquence des autres mécanismes de résistance, souvent exprimés à bas niveau, pourrait être sous-estimée faute d'études épidémiologiques.

**Phénotype « pénicillinase de haut niveau » ou « pénicillinase acquise »**

Le phénotype « pénicillinase de haut niveau » est d'expression variable selon la nature du promoteur du gène de structure, du nombre de copies du gène et de l'espèce bactérienne hôte. L'expression est souvent faible chez *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani* et *Providencia*. Le phénotype de résistance se présente donc sous différentes formes qui évoluent entre deux extrêmes :

- Une activité pénicillinase faible responsable d'une résistance limitée aux aminopénicillines (le diamètre d'inhibition est généralement absent contrairement à ce qui est observé dans la résistance naturelle des espèces du groupe 2) et aux carboxypénicillines. La sensibilité aux uréïdopénicillines et C1G apparaît peu ou pas affectée.

- Une activité pénicillinase forte responsable d'une résistance aux aminopénicillines, à leur association aux inhibiteurs, aux carboxypénicillines, aux uréïdopénicillines et aux C1G. Une diminution de la sensibilité est communément observée pour les associations ticarcilline-clavulanate et pipéracillinetazobactam. La résistance peut s'étendre aux C2G, principalement chez *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* et *C. freundii*.

**Règles d'interprétation :** En raison des enzymes impliquées dans ce phénotype, il est recommandé d'interpréter les résultats « sensibles » en « intermédiaires » pour toutes les pénicillines si la production d'une pénicillinase est suspectée.

**Phénotype « pénicillinase résistante aux inhibiteurs »**

Le phénotype « pénicillinase résistante aux inhibiteurs » a été initialement décrit chez *E. coli* en 1991. Il comporte une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et à moindre niveau aux uréïdopénicillines, comme dans le phénotype précédent. Cependant il s'en distingue par une résistance aux associations des aminopénicillines et des carboxypénicillines avec les bêta-lactamines inhibitrices alors que les C1G conservent généralement leur efficacité.

### **Phénotype « beta-lactamase à spectre étendu »**

Le phénotype « beta-lactamase à spectre étendu » (BLSE) comprend une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines, à l'exception des céphamycines. Cependant, la résistance aux C3G, C4G et à l'aztréonam est plus ou moins marquée selon les enzymes et les souches. Phénotype « hyperOXY » Des souches de *K. oxytoca* sont résistantes à haut niveau à l'ensemble des pénicillines, aux C1G, aux C2G, à l'exception des céphamycines, et à bas ou haut niveau à l'aztréonam. Le test de synergie avec le clavulanate est positif avec le céfotaxime, rarement positif avec les C4G et la ceftazidime. Le niveau de résistance, toujours plus élevé pour l'aztréonam que pour les C3G et les C4G, permet de différencier le phénotype « hyperoxy » du phénotype « BLSE »

### **Phénotype « céphalosporinase de haut niveau »**

Le phénotype « céphalosporinase de haut niveau » correspond à une résistance plus ou moins marquée aux pénicillines, aux C1G, aux C2G, à l'aztréonam et à au moins une C3G. Le test de synergie est négatif entre les C3G, les C4G ou l'aztréonam et les bêta-lactamines inhibitrices. Les céphamycines ne sont pas actives, exception faite vis-à-vis de l'espèce *H. alvei* et les C4G restent le plus souvent efficaces. La résistance aux C3G peut être totalement ou partiellement restaurée en présence de cloxacilline (100mg/l).

### **3.3.2. Résistance aux aminosides [49]**

Les différents genres composant la famille des entérobactéries sont naturellement sensibles aux aminosides à l'exception de *Providencia* et un grand nombre de *Serratia marcescens*.

L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de la résistance acquise le plus fréquent. Les enzymes sont codés par des germes plasmidiques qui peuvent atteindre tout ou partie des aminosides. Le second mécanisme de la résistance acquise aux aminosides par imperméabilité cellulaire est moins souvent observé chez les entérobactéries. L'imperméabilité cellulaire entraîne le plus souvent une résistance croisée aux différents aminosides. Le troisième aspect de la résistance acquise est l'altération de cible ribosomale par mutation chromosomique qui est encore plus rare chez les entérobactéries.

### **3.3.3. Résistance aux quinolones**

Les entérobactéries sont sensibles aux quinolones classiques (acide nalidixique, acide pipemidique etc.) et aux fluoroquinolones (péfloxacine, ofloxacine etc.). Néanmoins, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont plus ou moins bonnes selon l'espèce d'entérobactéries et les différentes quinolones. La résistance acquise aux quinolones, dont le support génétique est exclusivement chromosomique (mutations), est due à deux mécanismes

qui peuvent être associés : altération de la cible et/ou diminution de la perméabilité. Il est important de constater que, dans la plupart des cas, la résistance à l'acide nalidixique s'accompagne d'une résistance aux autres quinolones.

### **3.3.4. Résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatifs**

Les entérobactéries habituellement résistantes aux macrolides, lincosamides et synergistines sont habituellement sensibles aux phénicoles, tétracyclines, sulfamides, triméthoprim, nitrofuranes, fosfomycine et polymyxine (colistine). Mais cependant la plupart des espèces de *proteus*, *morganella*, *providencia* et *serratia* sont résistantes aux tétracyclines, nitrofuranes et polymyxine. Enfin la rifampicine n'est active que sur certaines espèces d'entérobactéries. En plus de la résistance naturelle, les entérobactéries peuvent devenir résistantes (résistance acquise) à un ou plusieurs de ces antibiotiques ou antibactériens par mutations chromosomiques ou acquisition de plasmides de résistance [28].

Enfin un critère de gravité particulier est représenté par le fait que ces souches d'entérobactéries présentent souvent des résistances multiples aux antibiotiques. Un nombre croissant de souches, en particulier dans le genre *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* et *Providencia*, quelques souches de *Proteus* indole-positif et des souches d'*Escherichia coli* céphalotine résistance, possèdent des bêta-lactamases qui augmentent le phénomène de résistance à de nombreux antibiotiques du groupe des bêta-lactamases. L'émergence et l'augmentation potentielle de souches d'entérobactéries productrices de BLSE (bêta-lactamases à spectre élargi) en particulier chez *K. pneumoniae* constituent un phénomène inquiétant. La détection de ces souches n'est pas seulement importante pour le patient mais également dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales [50].

### **3.4. Conservation des souches**

Tout bactériologiste est confronté au problème de conservation des souches bactériennes particulièrement en Afrique où les conditions ne sont toujours pas réunies. Les motifs de conservation sont variés, parmi lesquels :

- Etude des gènes de résistance et de leur mécanisme ;
- Envoi de souches pour études plus approfondies (sérotypage, lysotypage, étude de virulence...) par un laboratoire de référence ;
- Etudes ultérieures de similitudes pour des souches isolées chez un même malade ou chez des malades différents (enquêtes épidémiologiques, mises en évidence d'infections nosocomiales...);

- Souches de référence utiles pour l'identification de souches inconnues, les études taxonomiques, l'enseignement ou la validation de techniques (antibiogramme, dosage de vitamines...). Ces souches proviennent généralement de centres spécialisés (collections) ;
- Souches à usage industriel : production de vaccins, d'antibiotiques, d'enzymes, de dérivés laitiers et agro-alimentaire (fermentations) ;
- Souches mutantes ayant des propriétés particulières.

#### **3.4.1. Principes généraux**

Si le but est de maintenir le plus longtemps possible sans repiquage, la vitalité d'une population bactérienne, il est également souhaitable que le phénotype et le génotype de la souche soient conservés. Il convient dans tous les cas d'éviter :

- Tout stress pouvant entraîner la mort ou la dégénérescence des bactéries. Une température de conservation constante et le plus bas possible est donc recommandée, de même que le maintien à l'obscurité ;
- L'apparition de mutants : des repiquages répétés, particulièrement en milieu liquide, sont déconseillés et tout repiquage se fera par prélèvement de colonies ;
- La perte de virulence : repiquages limités entre deux passages sur animal et dans certains cas, conservation des organes, voire de l'animal entier inoculé, par congélation.

La conservation de bactéries nécessite de les placer en état de vie ralentie ou momentanément suspendue (spores), donc dans des conditions peu favorables à leur multiplication. Les états secs ou congelés seront privilégiés et dans le cas de repiquages sur milieux de cultures, ceux-ci seront pauvres, exempts de sucres fermentescibles, à l'abri de l'action de l'oxygène de l'air (tube hermétique ou culture recouverte d'huile minérale). D'une façon générale, la culture bactérienne sera en tout début de phase stationnaire afin de privilégier la conservation de cellules bactériennes matures, plus résistantes aux agressions liées aux diverses méthodes de conservation.

#### **3.4.2. Moyens de conservation**

##### **- Conservation de courte durée (quelques jours à quelques semaines)**

**Au laboratoire :** C'est dans ce délai qu'une conservation sur milieux de culture est envisageable sans être trop fastidieuse. L'intervalle entre deux repiquages sera fonction de la bactérie (variable selon le genre, l'espèce, voire au sein d'une même espèce), du milieu employé et des conditions ambiantes. Quelques règles générales : le milieu de culture choisi est incubé (18 à 24 heures à la température optimale de la souche), puis conservé à la

température du laboratoire ou du réfrigérateur à 4°C. Les cultures seront conservées à l'obscurité, tubes hermétiquement bouchés, pour éviter la dessiccation et limiter l'action de l'oxygène de l'air. Dans ce dernier but, la culture incubée peut être recouverte d'huile minérale stérile ou scellée sous vide (bactéries anaérobies). Pour des bactéries peu fragiles (entérobactéries, staphylocoques, corynébactéries, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*...), il n'y a pas de problème particulier de conservation pendant quelques semaines à 22°C.

**Pour expédition :** il existe dans le commerce des milieux de transports très utiles pour l'expédition de souches bactériennes y compris des bactéries très délicates mais dont il convient de s'assurer de la capacité à maintenir en survie la bactérie considérée. Pour des bactéries de culture difficile et nécessitant une atmosphère particulière (anaérobie ou microaérophilie), on préférera l'expédition de la culture bactérienne dans des géloses profondes ou dans des sachets préservant cette atmosphère.

– **Conservation de moyenne durée (quelques mois)**

Les repiquages deviennent alors fastidieux et sont sources de mutations possibles. La multiplication cellulaire implique un métabolisme bactérien actif, ce qui augmente les risques de mutations ou d'altérations des caractéristiques (ferments). Les bactéries devront donc présenter un maximum de stabilité. On pourra cependant pour ce délai de conservation des milieux spéciaux adaptés ou la congélation à -80°C.

-**Conservation de longue durée (plusieurs années)**

Pour cette durée de conservation un maximum de garanties quant à la viabilité des échantillons sera recherché. Pour certaines bactéries, une simple dessiccation pourra suffire à maintenir un état de survie très long, mais pour la plus grande majorité des autres des méthodes plus sophistiquées comme la lyophilisation ou la congélation en azote liquide seront mises en œuvre [51].

# **METHODOLOGIE**

## 4. METHODOLOGIE

### 4.1. Cadre d'étude

Le laboratoire PA&KA a servi de cadre pour notre étude. Il s'agit d'un laboratoire privé d'analyses biomédicales situé sur la rive gauche de Bamako. Le choix de ce laboratoire a été motivé par le nombre conséquent de patients reçus pour des examens bactériologiques.

#### **Description du laboratoire PA&KA :**

Le laboratoire PA&KA est un laboratoire de biologie médicale situé sur la rive gauche du fleuve Niger traversant la ville de Bamako. Il se trouve dans le quartier Hamdalaye ACI non loin du monument éléphant (appeler monument **SAMA BA**).

Le laboratoire PA&KA a été créé le **23 septembre 2002** par le décret du ministère de la santé sous le N° : **3844**, aujourd'hui dirigé par **Dr. Hadid Abdel Aziz** médecin biologiste et secondé par **Dr. Youssouf DEMBELE** médecin biologiste.

Le laboratoire PA&KA comprend :

- Une administration générale comprenant un service de qualité, bureau des biologistes, bureau du Directeur, contrôleur gestion/RH et la comptabilité.
- Un laboratoire d'analyses médicales avec des activités de routine comprenant six (6) unités entre autres :
  - Unité de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie),
  - Unité de PCR,
  - Unité de Biochimie,
  - Unité d'immuno-sérologie,
  - Unité d'hémostase,
  - Unité d'hématologie.

Le personnel qui travaille dans le laboratoire de biologie médicale PA&KA de Bamako sont :

- (3) médecins biologistes et un (1) pharmacien biologiste permanents,
- Un (1) médecin biologiste et un (1) pharmacien biologiste vacataires,
- Treize (13) techniciens biologistes,
- Six (6) agents de prélèvement,
- Sept (7) agents d'accueil
- Un (1) agent de contrôleur gestion/Ressource humaine
- Une (1) responsable qualité,
- Deux (2) agents comptables,
- Deux (2) chauffeurs

- Trois (3) agents de service maintenance et équipement,
- Quatre (4) agents d'hygiène,
- Cinq (5) agents de sécurité.

#### **4.2. Type et période d'étude**

Nous avons réalisé une étude transversale, prospective. Notre étude a porté sur les résultats d'identification et d'antibiogramme des souches bactériennes de la famille des enterobacteriaceae isolées chez les patients venus avec une demande d'examens bactériologiques de janvier à juin 2020 au laboratoire PA&KA de Bamako.

#### **4.3. Population d'étude**

Notre étude a concerné les patients venus avec une demande d'examens bactériologiques au laboratoire PA&KA chez qui nous avons isolé des souches bactériennes de la famille des enterobacteriaceae pendant la période de notre étude.

#### **4.4. Critère d'inclusion et non inclusion**

##### **4.4.1. Critère d'inclusion :**

Ont été inclus dans notre étude toutes les demandes d'examens bactériologique ayant permis d'identifier des germes bactériens de la famille des enterobacteriaceae et ayant bénéficiés de l'étude de leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

##### **4.4.2. Critère de non inclusion :**

N'ont pas été inclus dans notre étude toutes les demandes d'examens bactériologique n'ayant pas permis d'identifier des germes bactériens de la famille des enterobacteriaceae mais aussi des demandes d'examens bactériologique ayant permis d'identifier des germes bactériens de la famille des enterobacteriaceae et n'ayant pas bénéficiés de l'étude de leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

#### **4.5. Taille de l'échantillon**

Notre étude a concerné 639 patients chez qui nous avons isolés des souches bactériennes de la famille des enterobacteriaceae ayant bénéficié d'un antibiogramme pendant la période de notre étude au laboratoire PA&KA de Bamako.

#### **4.6. Collecte des données**

La collecte des données a été réalisée à partir d'une fiche d'enquête préétablie sur laquelle toutes les informations nécessaires y sont portées.

#### **4.7. Variables étudiées**

- ❖ Les variables sociodémographiques
- L'âge des patients,

- Le sexe des patients.
- ❖ Les données bactériologiques
- La nature des prélèvements,
- La provenance des produits pathologiques,
- Les espèces identifiées,
- Les résultats des tests de résistance aux antibiotiques,
- Les mécanismes de résistance utilisés par les bactéries,
- Les phénotypes résistants.

#### **4.8. Matériels et méthodes**

##### **4.8.1. Matériels**

##### ✓ **Souches étudiées :**

Le matériel étudié était des souches bactériennes de la famille des enterobacteriaceae

##### ✓ **Prélèvements**

Les produits pathologiques étaient constitués d'urines, de pus, de sang, de liquide d'épanchement, d'expectoration, de selle et des exsudats génitaux féminins.

##### ✓ **Matériel essentiel**

- Microscope optique ;
- Bec bunsen ;
- Pipette pasteur ;
- Cellule de Malassez ;
- Boîtes de Pétri ;
- Lames porte-objet et lamelle ;
- Etuve bactériologique ;
- Automate (VITEK 2 Compact), Densichek, Tube à hémolyse, Bac alerte ;
- Distributeurs d'antibiotiques ;
- Ecouvillon

##### ✓ **Milieus de culture**

##### • **Milieus de culture solides**

- Milieu ordinaire ou gélose au sang
- Gélose Uri Select 4
- Gélose Drigalski
- Gélose Hektoen
- TCS, GSF

• **Milieux de culture liquides**

Bouillon (cœur-cervelle)

Flacon d'hémoculture (aero-anaerobie)

✓ **Quelques disques d'antibiotiques testés et leurs charges [52, 53, 54, 55, 56, 57] :**

**Tableau III :** Les disques d'antibiotiques testés et leurs charges

<p>• <b>Béta-lactamines</b></p> <p><b>Pénicillines</b></p> <p>Ampicilline : 10µg</p> <p>Amoxicilline+Acide clavulanique : 20+10µg</p> <p>Pipéracilline+Tazobactam : 75+10µg</p> <p>Ticarcilline : 75µg</p> <p><b>Céphalosporines</b></p> <p>Cefalotine : 30µg</p> <p>Cefoxitine : 30µg</p> <p>Cefotaxime : 30µg</p> <p>Ceftazidine : 30µg</p> <p><b>Carbapénèmes</b></p> <p>Ertapénème : 10µg</p> <p>Imipenème : 10µg</p>	<p>• <b>Aminosides</b></p> <p>Amikacine : 30µg</p> <p>Gentamicine : 10µg</p> <p>Tobramycine : 10µg</p> <p>• <b>Fluoroquinolones</b></p> <p>Ciprofloxacine : 5µg</p> <p>Ofloxacine : 5µg</p> <p>• <b>Quelques autres</b></p> <p>Sulfamethoxazole+Trimethoprime : 23,75+1,25µg</p> <p>Nitrofurantoïne : 300µg</p> <p>Colistine : 10µg</p> <p>Fosfomycine : 50µg</p>
---	---

## 4.8.2. Méthodologie de Laboratoire

### 4.8.2.1. Etude des produits pathologiques

Les prélèvements ont été effectués au laboratoire PA&KA en fonction des différents sites d'infections et concernaient l'urine, le pus, le liquide d'épanchement, d'expectoration, de selles et de prélèvements vaginaux.

#### 4.8.2.1.1. Cas des ECBU

##### ➤ Prélèvement

Le prélèvement se faisait sur les premières urines du matin et recueillis dans un flacon stérile fourni par le laboratoire soit dans la salle de prélèvement ou à domicile. Le recueil et le transport des urines ont été effectués dans des conditions rigoureuses qui avaient pour but d'éviter les contaminations d'origine urétrale, périnéale ou vaginale.

##### ➤ Analyse et traitement des échantillons

##### Examen macroscopique

Aspect : les urines étaient claires, légèrement troubles, troubles, hématuriques ou contenir un sédiment ou des filaments.

La présence de particules : filament, dépôt etc., était à signaler.

##### Examen microscopique

- Etat frais

Homogénéiser les urines totales, remplir la cellule de Malassez et faire le dénombrement des éléments figurés.

- Coloration de Gram

Elle se faisait pour des urines légèrement troubles à troubles. Le frottis a été réalisé avec 15 à 20  $\mu$ l d'urines totales ou du culot de centrifugation étalés sur une lame porte objet.

##### Culture

Milieu utilisé : gélose chromogène (Uriselect).

Après homogénéisation ensemencer une boîte d'Uri select avec 10  $\mu$ L d'urines totales et incubé à 37 °C  $\pm$  1.

#### 4.8.2.1.2. Cas des hémocultures

##### ➤ Prélèvement

On effectuait une ponction pour l'hémoculture aérobie et par la suite anaérobie dès l'apparition du sang dans le tube, on retirait le tourniquet en abaissant la bouteille sous le niveau de la ponction en tenant à la verticale de façon à visualiser la quantité de sang en remplissant le tube selon l'âge et le poids de l'individu à prélever.

➤ Analyse et traitement des échantillons sur BACTEC 9050

 Principe

La détection de microorganisme dans le sang de patient présente à la fois un intérêt diagnostic et pronostic. Les hémocultures sont essentielles dans le diagnostic et le traitement des agents étiologiques des septicémies. Les septicémies bactériennes constituent l'une des principales maladies infectieuses, d'où l'importance de la détection et de l'identification rapide des germes en causes dans l'activité du laboratoire de microbiologie.

Le BD BACTEC 9050 est conçu pour la détection rapide des germes dans les échantillons biologiques. Les échantillons à tester sont inoculés dans des flacons d'hémoculture appropriés puis chargés dans l'instrument pour une incubation et une lecture périodique. Chaque flacon contient une sonde fluorescente sensible à la concentration en CO<sub>2</sub> résultante du métabolisme microbien et à la consommation d'oxygène nécessaire à la croissance des germes. La variation de fluorescence de la sonde est mesurée toutes les 10 min par l'instrument. Cette fluorescence est aussi bien proportionnelle à l'augmentation du CO<sub>2</sub> qu'à la diminution de la quantité d'O<sub>2</sub> dans le flacon. Un flacon positif stipule donc une forte présomption de la présence de microorganismes viables dans le milieu.

 Mode opératoire

- Mise en marche du système

Allumer l'interrupteur derrière l'appareil

- Pour insérer ou réintroduire un flacon

- Ouvrir la porte du Bactec
- Appuyer sur la touche « Insertion flacon »
- Faire lire le code à barres du flacon devant le faisceau lumineux.
- Insérer le flacon dans l'alvéole indiquée sur l'écran.
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon si d'autres flacons sont à introduire.
- Appuyer sur la porte présente sur l'écran pour terminer l'insertion du ou des flacons.

- Pour retirer un flacon positif

- Ouvrir la porte.
  - Appuyer sur la touche « Retrait des positifs »
  - Retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
  - Faire lire code à barres du flacon.
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon positif.
- Appuyer sur la porte présente sur l'écran pour terminer l'insertion du ou des flacons.

- Pour retirer un flacon négatif

- Ouvrir la porte.
- Appuyer sur la touche « Retrait des négatifs »
- Retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
- Lire le code à barres du flacon. Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon négatif.
- Fermer la porte.

- Ensemencement des ballons positifs

- Ponctionner le ballon positif à l'aide d'une seringue stérile
- Prélever quelques ml de surnageant et mettre dans un tube à hémolyse stérile.
- Réaliser un état frais et une coloration de Gram, ensemercer les milieux correspondants à chaque type de bactérie observée.
- Le lendemain, procéder à la lecture des boîtes, aux tests complémentaires puis lancer l'identification et/ou l'antibiogramme à l'aide du système VITEK 2 Compact.

Il est important de prévenir le biologiste du résultat de la coloration de Gram des Hémocultures.

#### **4.8.2.1.3. Cas des pus :**

➤ Prélèvement

Les échantillons ont été recueillis sur deux écouvillons stériles dont l'un sert à faire le frottis pour la coloration de Gram et l'autre pour l'ensemencement sur des milieux de culture appropriés.

➤ Analyse et traitement des échantillons

 Examen macroscopique

On notait la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

Le pus pouvait être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés.

Lorsqu'un prélèvement était assez abondant, l'examen macroscopique (odeur, couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants :

- l'odeur nauséabonde des pus à anaérobies,

- l'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques,
- les pus crémeux à Staphylocoques ou à Pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte.

#### Examen microscopique

- Etat frais

Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets.

On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement x40.

Cet examen permet de :

- Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des polynucléaires neutrophiles ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative).
- Constater l'état des cellules (intactes ou altérées).
- Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

L'examen cytologique consistait à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

- Coloration de Gram

Au microscope optique, grossissement X 100. On notait la présence ou l'absence de bactéries (une ou plusieurs espèces),

- leur morphologie,
- leur position intra ou extracellulaire,
- en cas de pus polymicrobien, l'espèce dominante, et leur abondance.

#### Culture

Des isolements sur différents milieux ont été réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur :

- Milieu ordinaire ou Gélose au Sang Cuit incubée sous CO<sub>2</sub>,
- Géloses sélectives : Hecktoen, Mac Conkey, Drigalski, SS
- Autres types de milieu si le clinicien oriente vers certains types particuliers de germes.

L'identification a été ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés.

#### **4.8.2.1.3. Cas des liquides d'épanchement**

##### ➤ Prélèvement

Les prélèvements ont été effectués par le médecin et recueillis dans un pot stérile ou dans une seringue. Le produit pathologique est de nature stérile, le transport et la mise en culture était rapides. Le délai d'acheminement était inférieur à 2 heures.

➤ Analyse et traitement des échantillons

✚ Examen macroscopique

En cas de demande de cytologie et d'examen cytobactériologique ; Nous avons noté l'aspect macroscopique : purulent, hémorragique, sérofibrineux, présence de coagulum etc.

✚ Examen microscopique

Faire une numération des hématies et leucocytes sur le liquide total avec une cellule de Malassez. La numération ont été effectuée sur un liquide coagulé fourni des résultats à tendance basse (l'emprisonnement des cellules dans le coagulum).

On réalisait 3 frottis sur le culot de centrifugation (40 000 rpm pendant 5 min), dans un tube à hémolyse, un coloré au Gram pour la flore bactérienne et les autres au MGG pour la formule leucocytaire.

D'autres lames ont été réalisées si des analyses comme la coloration de Ziehl, l'anatomopathologie (anapath) sont demandés.

Recherche de microcristaux dans le liquide articulaire (arthropathies métaboliques).

**Acide urique**, ce sont des cristaux endogènes en forme d'aiguilles qui transpercent les leucocytes, ils sont parfois extracellulaires.

**Pyrophosphate de calcium**, en forme de losange, carré ou rectangle etc.

✚ Culture (cf. milieuxensemencés par produits pathologiques)

- Milieux ordinaires ou milieux au sang : TCS, GSC et GSF
- Milieux sélectifs : Gélose Drigalski, Hecktoen, Mac Con

**4.8.2.1.5. Cas de Prélèvement Vaginal**

➤ Prélèvement

La patiente s'installait en position d'examen gynécologique, un instrument appelé spéculum est introduit dans le vagin dans le but de rendre visible et accessible le col de l'utérus. Une fois le spéculum mis en place, le frottis se faisait à l'aide d'une petite spatule ou d'un bâtonnet muni de poils souple en grattant légèrement la surface des tissus à analyser. Le prélèvement des cellules pouvait avoir lieu dans le fond du vagin, à la surface du col de l'utérus et dans le canal du col de l'utérus selon la demande d'examen.

➤ Analyse et traitement des échantillons

✚ Examen macroscopique

La vulve pouvait être normale ou inflammatoire présentant des lésions.

La muqueuse vaginale normale était de couleur rose sans douleur au contact. La muqueuse inflammatoire était de couleur rouge, pouvait être douloureuse au contact et présentant des lésions.

L'endocol était normal ou présentant des lésions, saignant au contact.

Les sécrétions :

Abondance, les sécrétions pouvaient être rares, peu abondantes, abondantes, très abondantes.

Consistance, les sécrétions pouvaient être épaisses, adhérentes aux parois vaginales, caillébotées, liquides, glaireuses, bulleuses, purulentes.

La couleur de la leucorrhée, les sécrétions pouvaient être blanchâtres, jaunâtres, verdâtres, grisâtres etc.

#### Examen chimique

Mesurer le pH des sécrétions à l'aide du papier pH. Le pH normal est  $\leq 4,5$ .

#### Examen microscopique

L'écouvillon urétral ou endocervical pour la recherche de *Neisseria gonorrhoeae* était étalé sur une lame propre bien dégraissée pour réaliser un frottis sec qui sera coloré au Gram. On recherchait des polynucléaires, des diplocoques à Gram négatif intra ou extra leucocytaires, *Trichomonas vaginalis*.

Une goutte de suspension des sécrétions vaginales était placée entre lame et lamelle et observée au microscope à l'objectif 40. On recherchait les éléments suivants :

Les cellules épithéliales : pour apprécier l'exfoliation de l'épithélium.

Les éléments parasitaires : les plus rencontrés étaient les levures (*Candida*) et leurs filaments mycéliens, *Trichomonas vaginalis* reconnaissable par sa mobilité et ses flagelles.

La flore bactérienne : avec son abondance, sa morphologie (bacilles, cocci) et la mobilité. Les lames qui ont été confectionnées au moment du prélèvement seront colorées au Gram. On recherchait des polynucléaires ; la morphologie et le type de flore, les levures et leur filament, les « Clues Cells » (cellules épithéliales tapissées par des coccobacilles à Gram négatif (*Gardnerella vaginalis*), bacilles à Gram négatif incurvés aux extrémités effilées (*Mobilincus spp*) ; Des diplocoques à Gram négatif intra ou extra leucocytaires.

La flore normale était constituée d'une prédominance de bacilles de Doderlein qui sont des lactobacillus. Une flore déséquilibrée était constituée d'une minorité ou d'une absence de bacilles de Doderlein. On distinguait ainsi quatre types de flore :

Type I, présence exclusive de bacilles de Doderlein (flore normale)

Type II, prédominance de bacilles de Doderlein (flore normale)

Type III, prédominance d'une flore autre que la flore de Doderlein (flore déséquilibrée)

Type IV, absence de bacilles de Doderlein (flore déséquilibrée).

#### Culture

Les écouvillons endocervical et urétral ont été ensemencés sur une GSC avec inhibiteur antibiotique. L'incubation se faisait sous atmosphère CO<sub>2</sub> à 37 °C pendant 24 – 48 h.

Les sécrétions vaginales ont été ensemencées sur le milieu gélose Sab pour levures. L'incubation se faisait à 37 °C pendant 24 h.

Chez la femme ménopausé, on ensemence en plus du Sab et le GSC le GSF et TCS.

La recherche de Mycoplasme se faisait selon MO Recherche de Mycoplasme.

La recherche de *Chlamydia* a été faite selon le MO Recherche de Chlamydiae.

En fonction de l'examen microscopique du frottis coloré au Gram :

Lorsque le frottis du prélèvement urétral montre des polynucléaires et une flore monomorphe autre que les diplocoques à Gram négatif, une gélose enrichie non sélective de type GSC ou GSO était ensemencée.

Lorsque le frottis des sécrétions vaginales montre des polynucléaires et une flore déséquilibrée monomorphe, une gélose enrichie non sélective de type GSC ou GSO était ensemencée.

Chez une femme enceinte, la recherche de *Streptococcus agalactiae* était systématique. Une GSF était ensemencée avec les sécrétions vaginales.

#### **4.8.2.1.6. Cas des Coprocultures**

##### ➤ Prélèvement

Les échantillons de coproculture ont été recueillis dans un récipient propre, préalablement nettoyé à l'eau savonneuse ou désinfecté et essuyé. Le patient récupère à l'aide d'une spatule l'équivalent d'une noix de selles et les transfère dans un pot stérile adapté, fourni par le laboratoire d'analyses biomédicales. Les éléments glaireux ou d'aspect atypique sont à privilégier. Sur le pot ont été mentionnés le nom et le prénom du patient, mais aussi la date et l'heure du prélèvement.

##### ➤ Analyse et traitement de l'échantillon

#### Examen macroscopique

On notait la consistance (selles moulées, pâteuses/molles, liquides, semi-liquides, présence de glaire ou de sang) et la couleur.

Le contenu : à l'aide d'une anse ou d'une pipette, triturer les selles pour la recherche de gros vers, larves de parasites, anneaux de tœnia, éléments non parasitaires (débris végétaux, grains de légumes ou de fruits)

#### Examen microscopique

- Etat frais

Identifier et mettre 2 à 3 ml d'eau physiologique dans un tube à hémolyse.

Faire plusieurs prélèvements en différents points de la selle de façon à collecter une quantité de selles équivalente à un petit pois ou un grain de maïs et les plongés dans le tube à hémolyse contenant de l'eau physiologique.

Homogénéiser par aspiration et refoulement à l'aide d'une pipette pasteur en plastique (jusqu'à fragmentation complète de grosses particules ou des parcelles de glaires). Laisser sédimenter les grosses particules pendant 2 minutes.

Déposer une goutte de la suspension homogène sur une lame, couvrir d'une lamelle et observer au microscope à l'objectif x 10 puis 40.

Lire 20 à 40 champs minimum.

- Coloration de Gram

Il permettait d'apprécier l'équilibre de la flore bactérienne. Une flore normale est abondante et polymicrobienne (bacilles à Gram positif ou négatif).

Chez les patients dont l'âge est supérieur à 2 ans, la flore est à prédominance négative tandis que chez les patients dont l'âge est inférieur à 2 ans, elle est à prédominance positive.

La morphologie particulière de certaines bactéries : bacilles incurvés (*Vibrio*, *campylobacter* etc.)

Cet examen permettait de corriger le dénombrement des leucocytes qui passent inaperçus à l'état frais.

#### Culture

Pour toutes selles,ensemencer 10 µl de la suspension contenue dans le tube à hémolyse sur la gélose Hektoen et SS. Réaliser également une lame pour la coloration de GRAM.

#### 4.8.2.1. 7. Cas des Expectorations

##### ➤ Prélèvement

Le prélèvement a été effectué le matin par le patient au réveil après hygiène buccale. Le patient recueille les sécrétions du fond du poumon grâce à un effort de toux dans un pot stérile et transparent.

##### ➤ Analyse et traitement de l'échantillon

### Examen macroscopique

On décrivait si l'aspect est :

- Muqueux : donnant un aspect en gelée avec de rares parcelles purulentes ;
- Mucopurulent : muqueux avec des parcelles de pus plus nombreuses ;
- Salivaire ;
- Fluide et purulent ;
- Visqueux et adhérent.

On précisait aussi la couleur éventuellement : rouille, verdâtre, hémoptoïque (sang). Certaines caractéristiques permettent d'orienter le diagnostic. Ainsi, la présence de grains jaunes est caractéristique d'une actinomycose. De même, la perception (attention : ne pas sentir volontairement) d'une odeur fétide témoigne de la présence d'anaérobies.

### Examen microscopique

Une partie de l'échantillon était observée entre lame et lamelle au microscope.

Les critères microscopiques d'acceptation d'un prélèvement sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Les expectorations de classe 1 et 2 doivent être rejetées, celles de classe 3 et 4 montrent une bonne réaction inflammatoire, mais ont été contaminées par la salive. Les expectorations de classe 4 sont acceptables et celles de classe 5 sont les plus appropriées.

Classe	Nombre de cellules par champs (objectif 10)	
	Cellules épithéliales	Leucocytes
1	>25	< 10
2	> 25	10-25
3	> 25	> 25
4	10-25	> 25
5	< 10	> 25

Si le nombre de leucocytes est supérieur à 25 : apprécier la flore bactérienne : on notait les bactéries prédominantes ou bactéries ramifiées (Nocardia).

- Brossage Bronchique avec Protégé Distal

Le contenu de la brosse est déchargé en vortexant, 10µl de la suspension obtenue sont ensemencés sur les géloses (GSF, GSC, DRIG). Le reste de la suspension est centrifugé et le culot étalé sur une lame et colorée au Gram. Le dénombrement significatif est de  $10^3$  UFC/ml

- Lavage Broncho-Alvéolaire

Le produit pathologique est vortexé puis ensemencé sur les milieux gélosés avec 10  $\mu$ l (GSF, GSC, DRIG). Le reste est centrifugé à 4000 tours/mn pendant 10 min et le culot étalé sur une lame colorée au Gram et le dénombrement significatif est de  $10^4$  UFC/ml.

 Culture

Les cultures sont réalisées à partir du produit pathologique homogénéisé.

Les milieux utilisés sont : GSC, GSF, DRIG.

Le dénombrement significatif est  $\geq 10^7$  UFC/ml, le nombre de germes ne doit pas dépasser 2.

Les résultats sont à interpréter en fonction de la classe de l'expectoration (degré de contamination).

La souche responsable de l'infection est identifiée conformément au MO Identification des germes et les tests de sensibilité sont réalisés en fonction du germe isolé.

#### 4.8.2.2. Identification bactérienne et antibiogramme sur VITEK® 2 Compact

##### 4.8.2.2. 1. Principe

Au laboratoire de biologie médicale PA&KA de Bamako, l'identification s'est reposée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et conventionnels standards.

Pour l'identification biochimique, les souches d'entérobactérie avaient été identifiées par VITEK® 2 Compact ou les galeries API 20 E



**Figure 3 :** Vue photographique d'un Mini API



**Figure 4 : Vue photographique d'un Automate VITEK ®2 Compact**

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 pour le système VITEK®2 COMPACT inclut des programmes d'analyse, de gestion des données et un système de qualité afin de valider le kit test du VITEK®2 COMPACT.

#### **4.8.2.2. 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.

**NB : 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 :
  - Pour les bactéries à Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge) ;
  - A partir de la suspension bactérienne, nous avons pipeté et dilué 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 sur la cassette.

**NB :** différentes cartes utilisables :

ID GN : réf 21341 ; ATB : non entérobactéries : AST- 222, réf 413083 ; entérobactéries : AST-N 233, réf 413117

- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;
  - Cliquer sur Vitek 2
  - 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'isolant ;
  - 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.

### **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 bêta-lactamases des entérobactéries (*E. coli*, *Klebsiella*.) et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

### **Gestion des déchets**

- **Retrait des cartes éjectées :**
- **Retrait du réceptacle collecteur de déchet**

#### **4.8.2. 3. Identification bactériennes sur API 20 E :**

Le but de ce mode opératoire est de définir les règles, les moyens et les responsabilités nécessaires à l'identification des germes bactériens isolés en Microbiologie sur l'Api 20E.

##### **4.8.2.3. 1. Principe**

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

La lecture de ces réactifs se fait à l'aide du tableau de lecture et d'identification.



Figure 5 : Image d'identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* avec la galerie API 20E.

#### 4.8.2.3. 2. Mode opératoire

##### ✚ Test oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

##### ✚ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée (ou toutes eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz comme le Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> etc.) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire le code sur la languette latérale de la boîte. Ne pas inscrire de code sur le couvercle.
- Sortir la galerie de la boîte et la placer dans la boîte d'incubation.

##### ✚ Préparation de l'inoculum

- Utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile sans additif.
- A l'aide d'une anse, prélever une seule colonie bien isolée sur un milieu gélosé (culture jeune de 18 – 24h d'incubation).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries le milieu.

##### ✚ Inoculation de la galerie

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule,

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber le à 36°C ± 2°C pendant 18 – 24 heures.

#### Lecture

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en référant au tableau de lecture présent dans la notice ou sur le site de biomérieux.

- Si 3 tests ou plus sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs,
  - Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
  - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif de James. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Test à réaliser en dernier à cause de la libération de gaz pouvant altérer l'interprétation des autres tests. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.
  - Test VP : Ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.
- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :
  - Ré-incuber la galerie 24 h (±2) de plus sans rajouter les réactifs.
  - Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.
  - Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires.

#### Interprétation des résultats

L'identification est obtenue à partir du profil numérique :

- Détermination du profil numérique

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21<sup>ème</sup> test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

- Identification

Elle est réalisée à partir de la base de données (V4.1)

- A l'aide du catalogue Analytique, Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
- A l'aide du logiciel d'identification **apiweb<sup>tm</sup>** entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

Par ailleurs dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminant, les tests complémentaires suivants sont nécessaires :

- Réduction des nitrates en nitrites ( $\text{NO}_2$ ) et en azote ( $\text{N}_2$ ) : ajouter une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 2 à 5 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive ( $\text{NO}_2$ ). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) : ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive ( $\text{N}_2$ ) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc. Cette réaction est intéressante pour les bacilles à Gram négatif oxydase positive.

#### **4.9. Saisie et analyses des données**

Les données ont été saisies sur Excel (version 2016) et analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics version 19.

#### **4.10. Considérations éthiques**

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un travail de routine. Avec l'autorisation du responsable du laboratoire PA&KA de Bamako, nous avons veillé tout au long de notre étude au respect strict de la confidentialité des données et l'anonymat des patients. Les souches de bactéries multirésistantes sont conservés dans des congélateurs dont l'accès est limité. Les bonnes pratiques de laboratoire ont été respectées au cours de cette étude.

# RESULTATS

## 5. RESULTATS

L'effectif sur lequel a porté notre étude est de 639 souches d'entérobactéries isolées des patients venus avec une demande d'examen bactériologiques au laboratoire. De ces 639 souches isolées **70,3%** soit 449 souches d'*E. coli* étaient retrouvées suivi de **16,9%** soit 108 souches de *K. pneumoniae*.

### 5.1. Résultats Socio-démographiques

**Tableau IV** : Répartition des patients selon le sexe

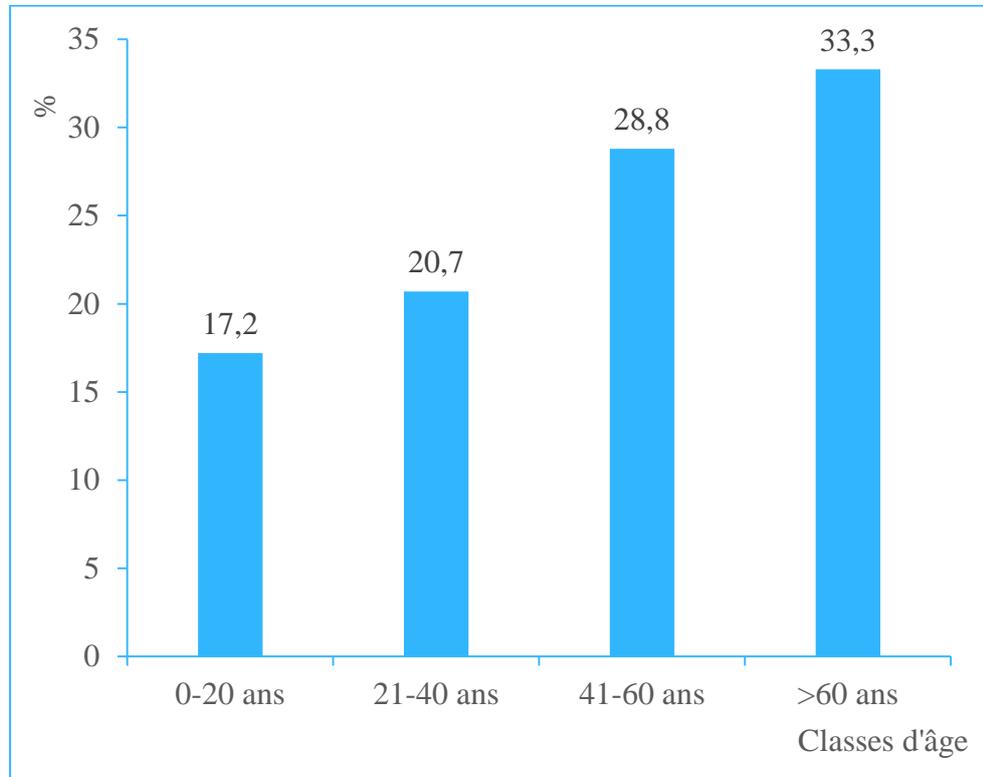
Sexe	Effectif	Pourcentage (%)
<b>Féminin</b>	<b>356</b>	<b>55,7</b>
Masculin	283	44,3
<b>Total</b>	<b>639</b>	<b>100</b>

Il y'avait plus de **55%** de sexe féminin et **44%** d'homme.

#### ✚ Répartition des patients selon les tranches d'âges

Ces patients étaient en majorité des personnes à plus de 40 ans soit **62 % (Figure 6)**

L'âge moyenne était de  $32,56 \pm 18,94$  ans et les âges extrêmes étaient de (1) mois et 71 ans.



**Figure 6** : Répartition des patients selon les tranches d'âges.

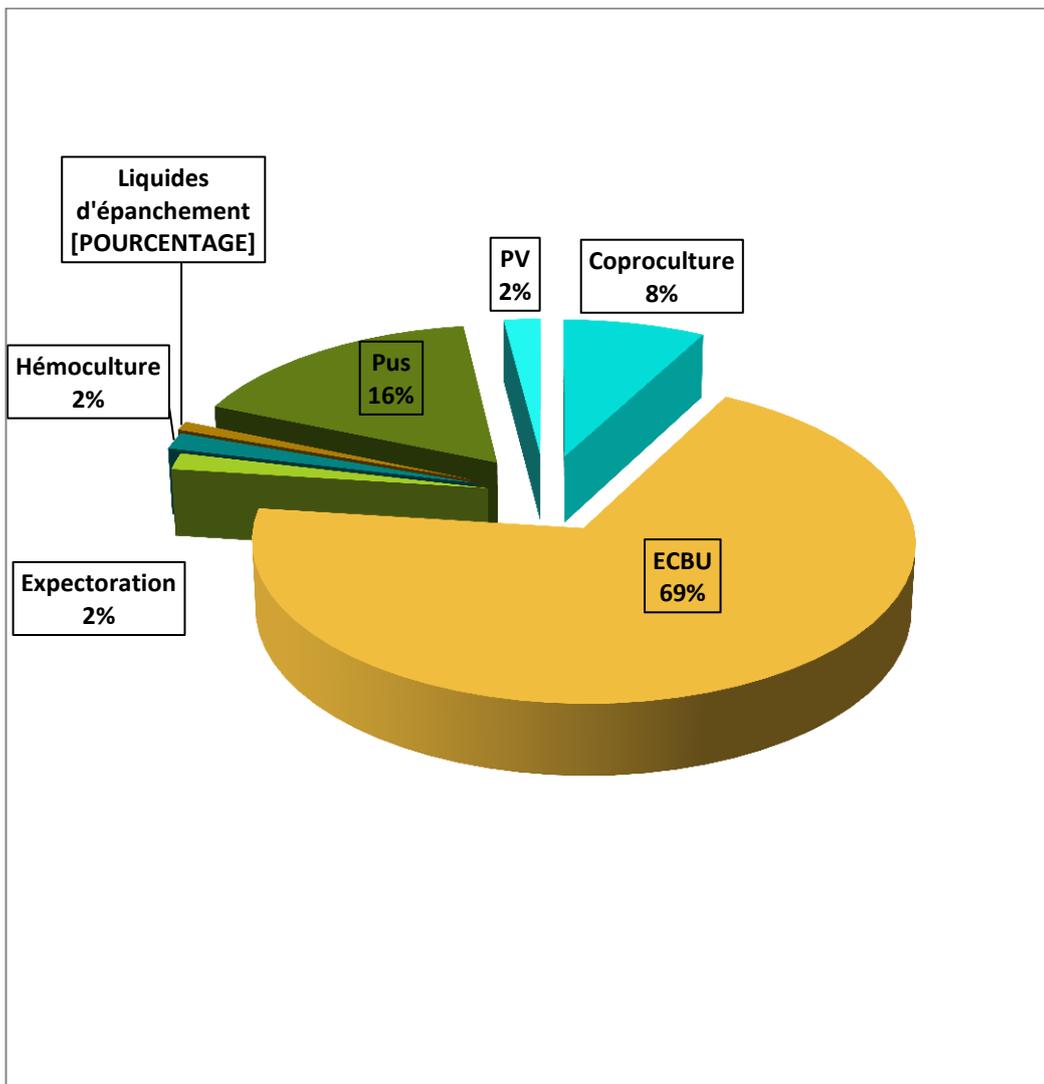
**Tableau V** : Répartition des souches d'entérobactérie isolées selon la provenance du patient pendant notre période d'étude.

Provenance	Effectif	Pourcentage
Communautaire	370	57,9
Hospitalisé	269	42,1
<b>Total</b>	<b>639</b>	<b>100</b>

Plus de la moitié des germes isolés était retrouvé chez les patients ambulatoires dans la communauté.

#### 📊 Répartition des types de prélèvement réalisé

La majorité des souches isolées au cours de notre période d'étude provenait des prélèvements urinaires avec **69%** soit 442 souches bactériennes (**Figure 7**).



**Figure 7 : Répartition selon le type de prélèvement**

**La fréquence d'isolement des espèces d'entérobactéries**

**Tableau VI : Fréquence des espèces d'enterobacteriaceae isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.**

<b>Espèce</b>	<b>Effectif</b>	<b>Pourcentage</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	7	1,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	2,5
<b><i>Escherichia coli</i></b>	<b>449</b>	<b>70,3</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	0,6
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	<b>108</b>	<b>16,9</b>
<i>Morganella morgannii</i>	9	1,4
<i>Proteus mirabilis</i>	14	2,2
<i>Shigella spp</i>	12	1,9
Autres*	20	3,1
<b>Total</b>	<b>639</b>	<b>100</b>

\* : *Klebsiella spp* (2) ; *Pantoea Spp* (1) ; *Proteus kauseri* (2) ; *Proteus penneri* (3) ; *Proteus spp* (2) ; *Providencia rettgeri* (1) ; *Providencia stuartii* (2) ; *Salmonella enterica* (1) ; *Serratia fonticola* (1) ; *Salmonella paratyphi* (3) ; *Salmonella spp* (2)

Ce tableau montre qu'*E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée avec **70,3%** de l'ensemble des espèces étudiées suivie de *K. pneumoniae* avec **16,9%**.

## 5.2. RESULTATS DESCRIPTIFS :

**Tableau VII** : Résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.

Famille		Germe				
		<i>E. coli</i> N=449	<i>E. cloacae</i> N=16	<i>K. pneumoniae</i> N=108	<i>P. mirabilis</i> N=14	<i>Shigella spp</i> N=12
$\beta$ -lactamines	Molécules d'ATBs testées	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
	AMP	R. N	R. N	R. N	13(92,86)	R. N
	AMC	321(71,5)	R. N	66(61,11)	9(64,3)	<b>12(100)</b>
	PPT	305(67,93)	11(68 ,75)	64(59,26)	9(64,3)	<b>12(100)</b>
	TIC	408(90,87)	14(87,5)	R. N	13(92,86)	<b>12(100)</b>
	CEF	315(70,16)	R. N	64(59,26)	7(50)	<b>12(100)</b>
	FOX	246(57,79)	R. N	59(54,63)	7(50)	<b>12(100)</b>
	CTX	252(56,12)	11(68 ,75)	58(53,7)	9(64,3)	<b>1(8,33)</b>
	CAZ	251(55,9)	11(68 ,75)	58(53,7)	9(64,3)	<b>1(8,33)</b>
	ETP	8(1,78)	1(6,25)	5(4,63)	0	0
	IMP	8(1,78)	1(6,25)	5(4,63)	1(7,13)	0

R.N : Résistance Naturelle, N : nombre de souche

En plus de quelques résistances naturelles de nos souches sur certaines molécules d'antibiotique testées, nous avons observé que toutes nos souches d'entérobactéries majoritairement isolées avaient un taux de résistance de plus de **50%** à toutes les molécules de la famille des bêtalactamines testées.

**Tableau VIII :** Résistance aux aminosides des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude

		Germes				
Famille	Molécules d'ATBs testées	<i>E. coli</i> N=449	<i>E. cloacae</i> N=16	<i>K. pneumoniae</i> N=108	<i>P. mirabilis</i> N=14	<i>Shigella spp</i> N=12
Aminosides		R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
	AKN	67(14,92)	4(25)	6(5,56)	3(21,43)	<b>11(91,67)</b>
	GEN	153(34,08)	9(56,25)	41(37,96)	10(71,43)	<b>12(100)</b>
	TOB	180(40,09)	9(56,25)	44(40,74)	10(71,43)	<b>12(100)</b>

N : nombre de souche de la bactérie

Les molécules des aminosides testées avaient une résistance élevée d'ordre de plus de 35% sur toutes nos souches d'entérobactéries majoritairement isolées. Nous avons observé une résistance d'ordre de 91,7% des souches de *Shigella* à l'Amikacine. Cependant nos souches de *Shigella* étaient insensibles vis-à-vis de la Gentamycine et de la Tobramycine (**100%**)

**Tableau IX :** Résistance aux fluoroquinolones des souches d'entérobactérie majoritairement isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.

		Germes				
Famille	Molécules d'ATBs testées	<i>E. coli</i> N=449	<i>E. cloacae</i> N=16	<i>K. pneumoniae</i> N=108	<i>P. mirabilis</i> N=14	<i>Shigella spp</i> N=12
Fluoroquinolones		R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
	CIP	296(65,92)	10(62,5)	59(54,63)	10(71,43)	1(8,33)
	OFLO	342(76,17)	11(68,75)	60(55,56)	10(71,43)	1(8,33)

N : nombre de souche de la bactérie

Les molécules des fluoroquinolones testées avaient des taux de résistances de plus de **60%** sur nos souches d'entérobactérie isolées à l'exception des souches de *shigella spp* qui avaient un taux de résistance de **8,33%** vis-à-vis de la ciprofloxacine et de l'ofloxacine.

**Tableau X :** Phénotype de résistance des bactéries aux différentes familles d'antibiotiques isolées chez les patients en milieu communautaire et hospitalier

Phénotype de résistance aux différentes familles d'antibiotiques testées		Communautaires		Hospitalisés	
		<i>E. coli</i> N=255 (%)	<i>K. pneumoniae</i> N =60 (%)	<i>E. coli</i> N =194 (%)	<i>K. pneumoniae</i> N=48(%)
Bétalactamines	Sauvage	28 (11)	27 (45)	9 (4,64)	15 (31,25)
	Pase BN	37 (14,5)	0	21 (10,82)	0
	Pase HN	47 (18,43)	4 (6,67)	19 (9,8)	0
	Case BN	1 (0,4)	0	1 (0,5)	0
	Case HN	129 (50,6)	20 (33,33)	111 (57,2)	34 (70,83)
	TRI	6 (2,35)	0	5 (2,58)	0
	BLSE	15 (5,88)	1 (1,67)	10 (5,15)	2 (4,17)
	Carbapénèmase	4 (1,6)	1 (1,67)	5 (2,58)	3 (6,25)
Aminosides	Sauvage	172 (67,45)	35 (58,33)	95 (49)	29 (60,42)
	TA *(ANT4'-II)	7 (2,75)	0	4 (2,06)	0
	KGT (ANT2"-I)	55 (21,57)	16 (26,67)	43 (22,16)	19 (39,6)
	(KGTNT : AAC3-II)	27 (10,58)	2 (3,33)	28 (14,43)	4 (8,33)
Fluoroquinolones	Sauvage	103 (40,4)	28 (46,67)	46 (23,71)	21 (43,75)
	2GyrA ParC	162 (63,53)	25 (41,67)	135 (69,6)	33 (68,75)

Pase : Pénicillinase ; Case : Céphalosporinase ; BN : Bas Niveau ; HN : Haut Niveau ;

BLSE= Bêta lactamase à Spectre Etendu ; TRI : TEM Résistante aux inhibiteurs ;

2Gyr A Par C : phénotype de 2 mutations du gène gyrA et parC

Ce tableau montre que le phénotype céphalosporinase de haut niveau était plus retrouvé chez les souches isolées en milieu hospitalier. Par contre les phénotypes retrouvés pour les autres familles d'antibiotiques testées étaient relativement proches pour les souches bactériennes qu'elles soient isolées en milieu communautaire ou hospitalisé

**Tableau XI** : prévalence des bactéries multi-résistantes au cours de notre période d'étude

<b>Espèce</b>	<b>Nombre de bactéries isolées</b>	<b>BMR</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	7	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	<b>16</b>	<b>9(56,25)</b>
<i>Escherichia coli</i>	<b>449</b>	<b>238(53)</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>108</b>	<b>55(50,93)</b>
<i>Morganella morgannii</i>	9	2(22,22)
<i>Proteus mirabilis</i>	<b>14</b>	<b>9(64,29)</b>
<i>Shigella spp</i>	12	3(23,08)
Autres*	20	4(21,05)
<b>Total</b>	<b>639</b>	<b>320</b>

Ce tableau montre que *proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli* et *K. pneumoniae* sont dans 50% des cas des espèces bactériennes multi-résistante.

**Tableau XII** : Répartition des phénotypes de résistance de l'ensemble des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées au cours de notre période d'étude

Phénotype de résistance aux différentes familles d'ATBs testées	<i>Escherichia coli</i> N=449(%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N= 108(%)
BLSE	25(5,6%)	3(2,77)
Carbapénèmase	9(2%)	4(3,7)
Case BN	2(0,44)	0
<b>Case HN</b>	<b>241(53,67%)</b>	<b>54(50%)</b>
Pase BN	58(12,92)	0
<b>Pase HN</b>	<b>66(14,7%)</b>	4(3,7)
Sauvage (Pase BN, case BN)	37(8,24)	43(40%)
TRI	11(2,44)	0

Pase : Pénicillinase ; Case : Céphalosporinase ; BN : Bas Niveau ; HN : Haut Niveau ; BLSE= Bêta lactamase à Spectre Etendu ; TRI : TEM Résistante aux inhibiteurs.

Ce tableau montre que pour l'ensemble des souches majoritairement isolées le phénotype céphalosporinase de haut niveau était plus retrouvé chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, suivi de phénotype pénicillinase de haut niveau pour les mêmes souches bactériennes.

# **DISCUSSION**

## 6. DISCUSSION

Le laboratoire où a eu lieu notre étude est une structure privée. Cette étude a permis d'étudier l'activité antibactérienne des antibiotiques sur les souches d'entérobactéries isolées pendant notre période d'étude. Elle nous a permis de déterminer la fréquence d'isolement des bactéries de la famille des entérobactéries. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par (Safroui, 2010) [58] mais ils concordent avec ceux rapportés par les différents auteurs à travers le monde [14, 59, 60].

De toutes les entérobactéries (639 souches) isolées *E. coli* reste l'espèce la plus fréquemment isolée avec 70,3%, suivie de *K. pneumoniae* avec 16,9% (Tableau VI). Ces résultats sont superposables à ceux rapportés par Messai et al en 2007 [61] et Nadmia et al en 2010 [62] qui ont réalisés respectivement une étude sur le profil épidémiologique des entérobactéries isolées des patients neutropéniques et une autre sur le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogène communautaire à El Jadida au Maroc. Par contre nous retrouvons que *M. morgannii* et *E. aerogenes* occupent la dernière place avec des fréquences d'isolement respectivement de 1,4% et 0,6% de l'ensemble des entérobactéries isolées au cours de notre période d'étude (Tableau VI). Nos données diffèrent avec celles rapportées par Nijssen et al en 2004 en Europe qui a réalisé une étude sur la prévalence et la susceptibilité des souches d'entérobactéries productrices de BLSE [63].

Plus de la moitié de nos bactéries étudiées ont été isolées chez la femme avec 55,7% de l'ensemble de la population étudiée (Tableau IV). Mais aussi nous avons remarqué que plus 33% de bactéries isolées ont été retrouvées chez les personnes d'âge extrême supérieur à 60 ans (Figure 6)

### Résistance aux antibiotiques des germes isolés au cours de notre période d'étude :

- ✓ Résistance aux Bêtalactamines des souches isolées :

L'étude de la résistance acquise aux antibiotiques des souches isolées montrent que toutes les bactéries étudiées présentent une activité très faible à presque toute la famille des bêtalactamines. Nos résultats étaient similaires à ceux rapportés par Cecili et al. en 2015 [64] au Cameroun, qui ont fait la même observation lors d'une étude d'évaluation de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Douala. Ces données sont superposables à celles rapportées par Gangoue-Piéboji et al. en 2006 [65]. Cela pourrait s'expliquer par l'utilisation de ces molécules dans les traitements probabilistes mais aussi de la pression de sélection médicamenteuse.

Au cours de notre période d'étude la résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération était élevée dans l'ordre de plus de 50% de nos échantillons, nos résultats sont supérieurs à ceux de **Hashemi et al.** qui ont rapportés une résistance de 25% dans une étude réalisée en Iran en 2013 [66]. Par contre nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **RAMOUL en 2013** [67]. D'une manière générale seul l'ertapénème et l'imipénème parmi les molécules testées de la famille des bêtalactamines avaient une bonne activité sur les souches d'entérobactéries étudiées. Nos données sont similaires à celles rapportées par **Hashemi et al.** en Iran en 2013 [67]. Cela pourrait avoir son explication dans le fait que ses molécules sont peu prescrites et restent toujours cher sur le marché. Nous avons observé pour la ceftazidime, le cefotaxime, l'ertapénème et l'imipénème une bonne activité sur les souches du genre *Shigella* isolées de notre étude.

#### ✓ Résistance aux aminosides des souches isolées

Les molécules de la famille des aminosides testées sur nos souches étudiées avaient une faible activité antibactérienne. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Cecili et al.** en 2015 au Cameroun à Douala [64]. Cependant nous notons une activité de l'amikacine meilleure que celle de la tobramycine et de gentamycine. Nos données concernant l'amikacine sont similaires à celles rapportées en Espagne par **Guembe et al.** en 2008 [68] et superposables à celles rapportées par **Hashemi et al.** en Iran en 2013 [66] lors d'une étude sur la prévalence de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques.

#### ✓ Résistance aux fluoroquinolones des souches isolées

Les résultats de notre étude nous montrent que les deux molécules testées de la famille des fluoroquinolones pendant notre période d'étude avaient une résistance de plus de 50% sur les espèces majoritairement isolées à l'exception de *Shigella spp* avec 8,33% pour la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Cela est contraire aux données rapportées par **Hashemi et al.** en Iran. Cette résistance élevée dans notre étude trouve sa justification dans le fait que ces deux molécules sont les plus prescrites dans différents traitements infectieux à l'hôpital mais aussi en milieu communautaire. Depuis 1996, cette résistance n'a fait que croître : pour ce qui est des souches responsables de septicémie, 4 % étaient résistantes à la ciprofloxacine en 1996 alors qu'en 2007 elle était de 12 % [67].

L'utilisation en antibiothérapie probabiliste des fluoroquinolones en particulier la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la norfloxacine pour traiter les infections urinaires dues aux entérobactéries pourrait expliquer les taux de résistance élevés à cette famille d'antibiotique avec 41,50% pour la norfloxacine et 38,42% pour la ciprofloxacine selon **Hooper [70]**.

✚ **Phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches d'*E.coli* et de *K.pneumoniae* :**

✓ **Pour les souches d'entérobactéries isolées chez les patients en milieu communautaire :**

L'étude de phénotype de résistance de nos souches communautaires isolées montre que les phénotypes sauvages pour les bêtalactamines étaient de 11% pour *E. coli* et 45% *K. pneumoniae*. Nos résultats en ce qui concerne l'espèce *E. coli* sont plus bas que ceux rapportés par **Gonsu et al.** en 2014 à Yaoundé dans une étude portant sur le phénotype de résistance des souches d'*E. coli* responsables d'infections urinaires. D'une manière générale les résultats concernant le phénotype sauvage pour nos souches isolées sont inférieurs à ceux rapportés par certains auteurs à travers le monde tels que **Gonsu et al.** en 2014 ; **Akouétévi TOUDJI et al.** en 2017 ; **Zafindrasoa Domoina et al** en 2017 [71, 72, 73].

A ce qui concerne les aminosides, le phénotype sauvage était de 67,45% pour *E. coli* et 58,33% pour *K. pneumoniae*.

Pour les fluoroquinolones des taux de 40,4% et 46,67% de phénotype sauvage étaient retrouvés respectivement pour *E. coli* et *K. pneumoniae*.

Pour les phénotypes acquis pouvant être qualifiés de haut niveau étaient retrouvés pour *E. coli* à 5,88% de souches productrices de BLSE, 18,43% de pénicillinase de haut niveau et 50,2 % de souches productrices de céphalosporinase de haut niveau ceux-ci représentaient respectivement 15, 47 et 128 souches d'*E. coli* isolées au cours notre période d'étude. Nos valeurs des souches productrices de BLSE et de pénicillinase de haut niveau sont en dessous de celles rapportées par **Timbiné** en **2014** pour le phénotype BLSE qui a trouvé une valeur de 25% et 15% pour la pénicillinase de haut niveau lors d'un travail de recherche réalisé sur les marqueurs moléculaires de la résistance aux antibiotiques des bactéries entériques isolées en Afrique de l'ouest [74]. Par contre notre valeur pour les souches productrices de céphalosporinase de haut niveau est en dessus de celui rapporté par **Timbiné** en **2014**.

Parmi les souches isolées de *K. pneumoniae*, nous avons observés 6,67% de pénicillinase de haut niveau, 33,33% de cephalosporinase de haut niveau et 1,67% de BLSE et de carbapénèmase au cours de notre période d'étude. Comparativement aux données rapportées par **Zomahoun** en **2004** au Benin qui sont de 11,1% et 16,7 respectivement pour la pénicillinase haute niveau et la BLSE. [48].

Par contre nous avons observés une souche d'*E. coli* avec un phénotype associant le phénotype pénicillinase et cephalosporinase de l'ordre de 0,4%.

Le phénotype d'imperméabilité traduisant la résistance à tous les aminosides testés a été retrouvé chez 27 souches d'*E. coli* et 2 souches de *K. pneumoniae*. Ce phénotype d'imperméabilité pourrait être expliqué par une utilisation de certaines molécules de cette famille des aminosides dans les traitements probabilistes de nombreuses infections en milieu hospitalier et communautaire.

Pour les autres phénotypes de la famille des aminosides nous avons retrouvés le phénotype KGT chez 21,57% de souches d'*E. coli* et 26,67% de souches de *K. pneumoniae*. Ceci est comparable à ceux rapportés par **Gonsu et al.** en 2014 au Cameroun à Yaoundé [71].

Concernant les phénotypes de résistance aux fluoroquinolones, plus de 40 % de nos souches ont été résistantes à toutes les fluoroquinolones. Cette proportion est très élevée par rapport à d'autres études comme celle effectuée au Maroc qui n'a montré que 27% de résistance aux fluoroquinolones [75]. Nous avons retrouvé une résistance de haut niveau qui associe une altération concomitante sur 2gènes *gyrA* et le gène *parC* chez 63,53% de souches d'*E. coli* et chez 41,67% de souches de *K. pneumoniae*.

✓ **Pour les souches d'entérobactéries isolées chez les patients en milieu hospitalier :**

Les souches isolées chez les patients hospitalisés au cours de notre période d'étude montrent que les phénotypes sauvages pour les bêtalactamines étaient observés chez 4,64% de souches d'*E. coli* et chez 31,25% de souches de *K. pneumoniae*.

Pour les phénotypes acquis pouvant être qualifié de haut niveau étaient retrouvés chez 5,15% de souches d'*E. coli* productrice de BLSE, 56,7% de souche productrice de céphalosporinase de haut niveau, 9,8% de souches productrices de pénicillinase haut niveau.

D'une manière générale concernant la famille des bêtalactamines nos résultats sont superposables à ceux rapportés par **Akouétévi et al** en 2017 au TOGO qui ont montrés une diversité de résistance phénotypique dans une étude portant sur la prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) isolées au TOGO. Par contre les résultats de notre étude montrent que les nôtres sont supérieurs à ceux rapportés par **Gonsu et al** en 2014 au Cameroun à Yaoundé dans une étude portant sur les phénotypes de résistance des souches d'*E. coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé au Cameroun.

Pour les autres phénotypes de la famille des aminosides nous avons retrouvés 22,16% de souches d'*E. coli* et 39,6% de souches de *K. pneumoniae* exprimant le phénotype KTG. Ceci est comparable à ceux rapportés par **Gonsu et al.** en 2014 à Yaoundé.

Le phénotype d'imperméabilité traduisant la résistance à tous les aminosides testés a été retrouvé pour 14,43% de souches d'*E. coli* et 8,33% de souches de *K. pneumoniae*. En effet, pour les molécules testées des fluoroquinolones nous avons observés des phénotypes sauvages chez 23,71% de souches d'*E. coli* et 43,75% de souches de *K. pneumoniae*. Ceci concorde avec ceux rapportés par **Zafindrasoa Domoina et al** dans une étude sur les phénotypes de résistance des souches d'*E. coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire de CHU de Befelatanana antananarivo à Madagascar en 2017. Cette proportion est très élevée par rapport à d'autres études comme celle effectuée au Maroc qui n'a montré que 27% de résistance maximum aux fluoroquinolones [75].

Pour ces mêmes molécules de fluoroquinolones testées 69,6% de souches d'*E. coli* et 68,75% de souches de *K. pneumoniae* présentaient une résistance de haut niveau qui associe une altération concomitante sur les 2gènes *gyrA* et le gène *parC*. Cependant les phénotypes de résistances concernant les fluoroquinolones sont peu étudiés dans la littérature.

Le choix du laboratoire PA&KA a été motivé par le nombre conséquent de patient reçu pour examens bactériologiques. Bien en 6mois de collecte des données nous avons pu enrôler 639 patients chez qui nous avons isolés 639 souches d'entérobactéries dans différents types de prélèvement.

Ce nombre en si peu de temps montre que ce laboratoire avec cette activité de bactériologie doit être intègre dans le système de surveillance de la résistance aux antimicrobiens(RAM) au Mali. Par contre nous avons été confrontés à des problèmes de manque de certain disque d'antibiotiques. Pour l'étude de la résistance moléculaire au niveau de ce laboratoire ou de vérification de certains phénotypes de résistance, les dirigeants de ce laboratoire doivent mettre en place un système de souchothèque des différentes souches bactériennes isolées.

**CONCLUSION  
ET  
RECOMMANDATIONS**

## 7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

### Conclusion :

Notre étude a concerné l'exploration de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées au laboratoire PA&KA. Cette étude donne un aperçu de la fréquence d'isolement, de résistance et de phénotypes de résistance des entérobactéries isolées à Bamako durant notre période d'étude. De cette étude il ressort qu'*E. coli* et *K. pneumoniae* étaient les souches d'entérobactéries majoritairement isolées. L'étude de la résistance au cours de notre période d'étude montre que ces deux espèces avaient une résistance très élevée à toutes les molécules d'antibiotiques testées. Cependant nous avons observé qu'un taux élevé (91,7%) de résistance des souches de *Shigella* isolées vis-à-vis de l'Amikacine. Les phénotypes cephalosporinases de Haut niveau et pénicillinase de Haut niveau ont été les plus retrouvés chez nos souches bactériennes isolées de notre population d'études.

## **Recommandations :**

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes :

### **❖ Au Ministère de la Santé et du Développement Social :**

- Intégrer les laboratoires privés dans le programme de surveillance de la résistance aux antimicrobiens ;
- Renforcer la surveillance de la résistance aux antimicrobiens ;
- Règlementer l'utilisation des antibiotiques.

### **❖ Aux prescripteurs :**

- Baser la prescription des antibiotiques sur le résultat de l'antibiogramme ;

### **❖ Au laboratoire PA&KA :**

- Améliorer le système de collecte des informations auprès des patients reçus au laboratoire PA&KA ;
- Mettre en place une souchothèque des bactéries isolées au laboratoire.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## 8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **FAUCHÈRE JL** et **AVRIL JL**. Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing S. A., Paris, 2002:170-173.
2. **BRYSKIER A**. Epidémiologie de la résistance aux antibactériens. In : Bryskier A. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Paris : Ellipses, 1999 : 91.
3. **JONES RN, PFALLER MA**. Résistance bactérienne : Un problème dans le monde entier. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1998; 31: 379-88.
4. **MELETIS G**. “Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives” *Ther. Adv. Infect. dis*. 2015.
5. **LOGAN KL** and **WEINSTEIN RA**. “the epidemiology of carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace,” *J. Infect. Dis*. 2017.
6. OMS “RESIS ” 2014. Rapport OMS.
7. **JIM O'NEILL**. “Résistance aux antimicrobiens : les enjeux de la réunion des Nations Unies,” *Bull, l'organisation Mond, la santé, vol.* 2016 ;94 :63, 2016.
8. **PATRICIA A**. Bradford Extended-Spectrum bêta-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistant Threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14(4):933-51.
9. **TENOVER FC**. Développement et propagation de la résistance bactérienne aux antimicrobiens : Un aperçu. *Clin Infect Dis*, 2001; 33 (Suppl 3): 108S-15S.
10. **PICOT S, RAKOTOMALALA RS, FARNY K, SIMAC C** and al. Evolution of resistance to antibiotics from 1997 to 2005 in the Reunion Island. *Med Mal Infect*, 2010; 40(11): 617-24.
11. BMR-Raisin, « Surveillance des bactéries multi résistantes dans les établissements de santé en France », 2013.
12. **DENIS F, PLOY MC, MARTIN C, BINGEN E**, et **QUENTIN R**. Bactériologie médicale, Techniques usuelles, 2ème édition. Paris : Elsevier Masson, 2011. **R. Bonnet**, « Chapitre 16 -  $\beta$ -lactamines et entérobactéries », in *Antibiogramme*, 3ème édition. Paris: Editions Eska, 2012, p. 165-188
13. **ELOUENNAS M, SAHNOUM I, ZRARA A, BAJJOU T** and al. Epidemiology and susceptibility profile of blood culture isolates in an intensive care unit (2002-2005). *Med Mal Infect*, 2008 Jan; 38(1):18-24.
14. **ANEH**. Guide référentiel en Antibiothérapie, juin 2011.

15. **DOUMBIA ROKIA.** Profil de l'antibio-résistances des germes responsables d'infections urinaires à l'Institut National de Sante Publique de Bamako de janvier 2015 à juillet 2019. Thèse Pham [Bamako]. Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odontostomatologie. 2020. Thèse n°20P67
16. **CRISTIAN C.** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. 2008, p.76 -86, 257.
17. **MADIGAN M** et **MARTINKO J.** Biologie des micro-organismes. 11ème Edition. PEARSON Education, France.2007, p.354-355.
18. **MEZIANI M.** Mémoire de Magistère Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*, Université Mentouri Constantine. 2012, p.3.
19. **DENIS F, PLOY MC, MARTIN C, BINGEN E,** et **QUENTIN R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS.2007, p.335-401.
20. **MINOR L** et **VERON M.** Bactériologie médicale. 2e édition. Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris. 1989, p.312-459.
21. **KHAYAR Y.** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique, l'imipenème et l'ertapenème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat ; 2011. N°99.
22. **JOLY B** et **REYNAUD A.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. 2007, p.3.
23. **DELARRAS C.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Techniques et Documentation Lavoisier, Paris. 2007, p.128-129,247
24. **LAEPENT JP.** Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Edition Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 2000, p280.
25. **BENNANI M.** Recherche d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet de Fin d'Études. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah ; 2014.
26. **AKEL Z.** Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénèmases isolées au CHU IBN SINA-RABAT [thèse]. Rabat : Université Mohamed V de Rabat ; 2014.
27. **TERKJA DN.** Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen [Mémoire de master de Microbiologie]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen ; 2013.

28. **FERRON A.** Bactériologie médicale. 15<sup>ème</sup> C et R. 157-163 p.
29. **FARMER III JJ, BOATWRIGHT KD and JANDA JM.** Enterobacteriaceae: introduction and identification Dans Manual of clinical microbiology. Patrick R. Murray. 9<sup>ème</sup>. 2007. 649-66 p.
30. **AVRIL J, DABERNAT H, DENIS F, et MONTEIL H.** Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup> édition. Ellipses. Paris. 2000, p171-229.
31. **SAVOYE F.** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. THÈSE de doctorat en Microbiologie. Université de Bourgogne. France. 2011, p 42-43.
32. **VERNOZY-ROZAND C et MONTET MP.** *Escherichia coli* O157: H7. Londres, Paris, New York: Tec et Doc, 2001, p. 135.
33. **ROBERT CL, MSHAR PA, CARTTER ML, HADLER JL, SOSIN DM, HAYES PS et BARRETT TJ.** The role of heightened surveillance in an outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. *Epidemiol and Infect* **115**: 1995, p. 447-454.
34. **GRIFFIN PM.** *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Infectious of the Gastrointestinal Tract/Ed. par Blaser MJ, Smith PD, Radvin JI, Greenberg HB, Guerrant RL. New York: Raven Press, 1995, p.739-758.
35. **STEPHAN R et UNTERMANN F.** Virulence Factors and Phenotypical Traits of Verotoxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Asymptomatic Human Carriers. *J Clin Microbiol* **37**: 1999, p.1570-1572.
36. **PITIE-SALPÊTRIÈRE.** CHU-PS Bactériologie DCEM1.Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. Service de Bactériologie. 2003
37. **SINGLETON P.** Bactériologie pour la médecine et les biotechnologies. 6<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris. 2005, p.327-328.
38. [microcsb.net/IMG/pdf/doc-62.pdf](http://microcsb.net/IMG/pdf/doc-62.pdf). [En ligne]. (Consulté le 06/02/2016)
39. **DUFOUR JP.** Les diarrhées du macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) : essai de prophylaxie dans un élevage de l'île Maurice. Université Paul-Sabatier De Toulouse. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. 2005, p. 65. THESE : 2005 – TOU 3 – 4003.
40. **CARBONNELLA B, DENIS F, MARMONIER A, PINON G, et VARGUE R.** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris. 1987, p.146, 155.

41. **FAUCHÈRE JL** et **AVRIL JL**. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. 2002, p.365.
42. **BELOUNI R, BENSLIMANI A, RAMDANI BOUGUESSA N** et **MEGHIER M**. Manuel de Microbiologie. 2è Edition. OPU. Alger. 2009, p.91
43. **COURVALIN P, LECLERCQ R** et **BINGEN E**. Antibiogramme. 2e édition. Editions ESKA. 2006, p.13.
44. **PERRY JJ, STALEY JT** et **LORY S**. Microbiologie DUNOD. Paris. 2004, p.162.
45. **MOUNKORO P** et **DIAKITE A**. Recherche et étude de *Vibrio cholerae* dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug. Mémoire Master. Université Frères Mentouri Constantine. 2015, p.24, 41.
46. **YALA D, MERAD AS, MOHAMEDI D, OUAR KORICH MN**. Classification et mode d'action des antibiotiques. Med Maghreb.2001 ; 91: 1-8.
47. **NIANDOU MT**. Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako ; 2005.
48. **ZOMAHOUN CINP**. Évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire – Hubert Koutoukou Maga (C.N.H.U.-H.K.M.) de Cotonou. Thèse Pharm, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako ; 2004.
49. **BONNET R**. Bêta-lactamine et Entérobactérie Dans : Antibiogramme. 3 eme ESKA. Paris; 2012. 165-88 p.
50. **FRENEY J** et **CROZE M**. Enterobacteriaceae généralité Dans : Précis de bactériologie clinique. 2 eme ESKA. Paris; 2007. 979-87 p.
51. **BIMET F**. Conservation des bactéries In: Précis de bactériologie clinique. 2 ed ESKA. Paris; 2007. 729-33 p.
52. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1992. Technical report series 822. W.H.O., Geneva.
53. **CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa. 2010.

54. **CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M100-S19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20th informational supplement, Wayne, Pa. 2010.
55. **CA-SFM:** Comité de l'antibiogramme. French Society of Microbiology. 2010.
56. **EUCAST:** European Committee on Antimicrobial susceptibility testing. EUCAST QC Tables V1.2. 2010
57. **LONCLE-PROVOT V, KELLER E, GOURDIN MO et GARRIGUE ML.** Etude de la stabilité des disques antibiotiques dans les conditions d'utilisation en routine, 18th interdisciplinary meeting on anti-infectious chemotherapy, Paris, dec.3/4 1998.
58. **SEFRAOUI I.** Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant au CHU de Sidi Bel Abbes. Université de Tlemcen. Thèse de magister. 2010.
59. **ZOGHEIB E. et DUPONT H.** Entérobactéries multi résistantes. Elsevier SAS. 2005. p:153-165. Sur le lien: [http://www.sfar.org/sfar\\_actu/ca05/html/ca05\\_13/ca05\\_13.htm#94992](http://www.sfar.org/sfar_actu/ca05/html/ca05_13/ca05_13.htm#94992).
60. **GANGOUE-PIEBOJI J, KOULLA-SHIRO, NGASSAM P, ADIOGO D, NJINE T, et NDUMBE P.** Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde Central Hospital, Cameroon. International Journal of Infectious Diseases; 2004. 8: 147-154.
61. **MESSAI L, ACHOUR W, et BEN HASSEN A.** Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. Pathologie Biologie 2007.55:230-234.
62. **NADMIA H, ELOTMANI F, TALMI M, ZEROUALI K, PERRIER-GROSCLAUDE JD et TIMINOUNI M.** Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). Médecine et maladies infectieuses ; 2010. 40 : 303-305.
63. **NIJSSEN S, FLORIJB A, BONTENA MJM, SCHMITZ FJ, VERHOEF J et FLUIT AC.**  $\beta$ -lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. International Journal of Antimicrobial Agents; 2004. 24: 585-591.
64. **CECILE OKALLA EBONGUE,** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala (Cameroun). The Pan African Medical Journal, 2015;20:227. doi:10.11604/pamj.2015.20.227.4770

65. **GANGOUE-PIEBOJI J, KOULLA-SHIRO, NGASSAM P, ADIOGO D, NJINE T, et NDUMBE P.** Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. African Health Sciences. 2006 Dec;6(4):232-5.
66. **HASHEMI SH, ESNA-ASHARI F, TAYAKOLI S and MAMANI M.** The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. Journal of research in Health Sciences. 2013;13(1):75-80.
67. **RAMOUL A.** Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses [thèse Microbiol]. Annaba : Université Badji Mokhtar – Annaba ; 2013.
68. **GUEMBE M, CERCENADO E, ALCALA L, MARIN M, INSA R et BOUZA E.** Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections: results from the SMART studies 2003-2007. Revista Espanolade Quimioterapia. 2008;21(3):166-73.
69. Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques.
70. **HOOPER DC.** Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. Emerg Infect Dis 2001;7:337—41.
71. **GONSU KAMGA H, NZENGANG R, TOUKAM M, SANDO Z et KOULLA SHIRO S.** Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). AJPM. 2014;3:1-4.
72. **AKOUETEVI GERARD TOUDJI, BOUAIMA DJERI et SIMPLICE DAMINTOTI KST.** Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de betalactamases à spectre élargi isolées au Togo et leurs sensibilités aux antibiotiques. Juin 2017 ;
73. **ZAFINDRASOA DOMOINA RR, FIDINIAINA MAMY RANDRITSARAFARA SAÏda RASOANANDRASANA, LEA RAVEROHANTA et ANDRIAMIADANA LUC RAKOTOVAO.** Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. Pan Afrian Medical Journal.2017 ;26 :166.

74. **LASSINA GABI TIMBINE.** Etude des marqueurs moléculaires de la résistance aux antibiotiques des bactéries entériques isolées en Afrique de l'ouest (Burkina Faso, Mali, Sénégal). Cheik Anta Diop de Dakar ; 2014.
75. **TAGAJDID MR, BOUMHIL L, IKEN M, ADNAOUI M et BENOUDA A.** Etude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. Med Mal Infect. 2010 ; 40(2) :70-3.

## 9. ANNEXES

### FICHE D'ENQUETE

Bamako, le...../... .. / 2020

N° de Dossier :.....

#### ❖ Renseignements sociodémographiques :

Nom :..... Prénom :.....

Âges :..... ; Sexe : masculin(M) /\_\_\_/ ou féminin(F)/\_\_\_/

✓ Etat de gestation = Grossesse Oui /\_\_\_/ Non/\_\_\_/

✓ Structure de provenance : a-CHU /\_\_\_/ b- CSréf /\_\_\_/ c-CScom /\_\_\_/ d-Structure Privée/\_\_\_/

✓ Etat du patient : a- hospitalisé/\_\_\_/ b- Ambulatoire /\_\_\_/

#### ❖ Renseignement Clinique

Prescripteur : a- Médecin /\_\_\_/ b-Interne/\_\_\_/c- Equipe de garde/\_\_\_/ d-Autre à préciser.....

#### ❖ Examens demandés :

a- ECBU/\_\_\_/ b- Pus/\_\_\_/ c-Hémoculture/\_\_\_/ d-Liquide d'ascite /\_\_\_/ e-Expectorations /\_\_\_/

f- PV/\_\_\_/ g-LCR/\_\_\_/ h-Coproculture/\_\_\_/ i-autres à préciser.....

#### ❖ Conditions de prélèvement d'échantillon :

✓ Recueil (effectue par) :

a- Patient /famille /\_\_\_/ b-Technicien de santé/\_\_\_/ c- Biologiste /\_\_\_/ d-Interne /\_\_\_/ e-Acheminés /\_\_\_/ f-Autre à préciser :.....

Si le Recueil a été effectué à domicile ou l'échantillon acheminé :

Combien de temps écoulé entre le recueil et la livraison au laboratoire ...../.....

✓ Période à laquelle l'échantillon a été prélevé

a-Matinales /\_\_\_/ b-Autre moment de la prise à préciser.....

✓ Temps écoulé entre le prélèvement et l'analyse .....

✓ Conditions de conservation avant analyse

a- T° Ambiante/\_\_\_/ b- Etuve à 37° /\_\_\_/ c- Réfrigérateur /\_\_\_/

✓ Antibiothérapie récente ou en cour chez le patient Oui/\_\_\_/ Non/\_\_\_/

Si oui, quel(s) antibiotique(s) :.....

❖ **Examens Bactériologique :**

➤ Aspects macroscopiques :

- 1- Trouble /\_\_\_/ 2- Légèrement trouble /\_\_\_/ 3-Limpide /\_\_\_/ 4-Limpide /\_\_\_/  
5-Ecouvillonnage /\_\_\_/

✓ Consistance : .....

✓ Coloration :

1-Jaune/\_\_\_/2-Clair /\_\_\_/3-Purulent/\_\_\_/4-Hématique/\_\_\_/5-Autre à préciser :.....

➤ Aspect microscopique

1- Leucocytes : a- nombreux /\_\_\_/ b- assez nombreux/\_\_\_/ c- quelques/ \_\_\_/ d- rares/\_\_\_/

2- Hématies : a- nombreux/\_\_\_/ b- assez nombreux/\_\_\_/ c- quelques/\_\_\_/ d- rares/\_\_\_/

3- Cellules épithéliales: a-nombreux/\_\_\_/b- assez nombreux/\_\_\_/c-quelques/\_\_\_/ d- rares/\_\_\_/

4- Cristaux: a-présence/\_\_\_/ b-absence/\_\_\_/ Si présence lesquels.....

5- Levures : a- présence/\_\_\_/ b- absence/\_\_\_/ c-peu nombreuses

6- Culture : a- stérile/\_\_\_/ b- positive/\_\_\_/

7- Espèce : a-présence /\_\_\_/ b- absence/\_\_\_/

Si présence Espèce 1.....

Espèce 2.....

8- Phénotype du germe à l'antibiogramme :

a- Phénotype sensible(S)/\_\_\_/ b- Phénotype acquise (résistance) (R) /\_\_\_/ c- Phénotype multi résistant (MR)/\_\_\_/ d-phénotype intermédiaire(I) /\_\_\_/

**Résultat des antibiogrammes**

Antibiotiques testes	Résistants		Sensibles		INTER
	E1	E2	E1	E2	
Ampicilline (Amp)					
Amoxicilline /acide clavulanique (AMC)					
Piperamycine / Tazobactam(PPT)					
Ticarcilline (Tc)					
Cefalotine (CFT)					
Cefoxitine (CFXT)					

Cefotaxime (CFTX)					
Ceftazidime(CFTZ)					
Ertapenème(ETP)					
Imipenème (IMP)					
Amikacine(AK)					
Gentamycine(GEN)					
Tobramycine(TOB)					
Ciprofloxacin(CIP)					
Ofloxacin (OFLOX)					
Fosfomycine (FOS)					
Cotrimoxazole CXT					
Nutrofuratoine ( NTFT)					
Erythromycine (ERY )					
Benzyl penicilline (BZPEN)					
Oxacilline (OXA)					
Levofloxacilline (LEVO )					
Clindamycine (CDM)					
Moxifloxacin (MXF )					
Linezolid (LNZ)					
Quinupristine / Dalfopristine					
Colistine (C)					
Vancomycine(VAN)					
Streptomycine					
Tegicycline					
Tétracycline					
Chloramphénicol					

**FICHE SIGNALÉTIQUE :**

**NOM :** GORO

**PRENOM :** Aboubacar A

**PAYS D'ORIGINE :** Mali

**VILLE DE SOUTENANCE :** Bamako

**TEL :** (00223) 78381983 & 64084294

**MAIL :** [goroaboubacaraliasboulby@gmail.com](mailto:goroaboubacaraliasboulby@gmail.com)

**TITRE :** ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES  
ENTEROBACTERIES ISOLEES A BAMAKO DE JANVIER 2020 A JUIN 2020

**ANNEE UNIVERSITAIRE :** 2019-2020

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la faculté de pharmacie (FAPH)

**SECTEUR D'INTERET :** Bactériologie, Santé publique

**Résumé :** La résistance aux antibiotiques n'est pas un nouveau défi, dans certaines circonstances cliniques, elle a pris une telle ampleur que les recours thérapeutiques sont très limités. **Objectif :** Explorer la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako. **Patients & Méthodes :** De janvier à juin 2020, nous avons procédé à la collecte de toutes les souches bactériennes de la famille des entérobactéries. Pour l'étude bactériologique et d'antibiogramme des souches bactériennes étudiées nous avons utilisé les méthodes conventionnelles en bactériologie en respectant les recommandations du CASFM 2020. L'analyse des résultats a été faite à l'aide du logiciel SPSS version 19.0. **Résultats :** Pendant notre période d'étude, nous avons observé qu'*E. coli* reste l'espèce la plus fréquemment isolée avec 70,3%, suivie de *K. pneumoniae* avec 16,9% cependant nous avons retrouvé que *M. morgannii* occupait la dernière place avec une fréquence de 1,4%. L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé une résistance élevée aux C3G, aux fluoroquinolones de l'ordre de plus de 50% sur nos souches isolées à l'exception de *Shigella spp.* Les phénotypes cephalosporinases Haut niveau et pénicillinase Haut niveau ont été les plus retrouvés chez nos souches bactériennes isolées de notre population d'études. Le phénotype d'imperméabilité traduisant la résistance à tous les aminosides testés a été retrouvé chez plus de 10% des souches d'*E. coli* et plus de 3% des souches de *K. pneumoniae*. Pour les quinolones testées plus de 60% des souches d'*E. coli* et plus de 40% des souches de *K. pneumoniae*, présentaient une résistance de haut niveau qui associe une altération concomitante sur les 2gènes *gyrA* et le gène *parC*.

**Conclusion :** Cette étude montre le niveau de résistance élevée de nos souches bactériennes étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés. Seul l'Imipenème et l'Ertapenème gardent une bonne activité antibactérienne dans notre étude.

**Mots clés :** Résistance, antibiotiques, entérobactéries, laboratoire PA&KA de Bamako

**NAME:** GORO

**FIRST NAME:** Aboubacar A

**COUNTRY OF ORIGIN:** Mali

**CITY OF DEFENDED:** Bamako

**TEL:** (00223) 78381983 & 64084294

**MAIL:** goroabouacaraliasboulby@gmail.com

**TITLE:** STUDY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ISOLATED ENTEROBACTERIA IN BAMAKO FROM JANUARY 2020 TO JUNE 2020

**ACADEMIC YEAR:** 2019-2020

**DEPOSIT LOCAL:** Library of the Faculty of Pharmacy (FAPH)

**SECTOR OF INTEREST:** Bacteriology, Public health

**Abstract:** Antibiotic resistance is not a new challenge; in some clinical circumstances it has grown to such an extent that treatment options are very limited. **Objective:** Exploring the antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated in Bamako. **Patients & Methods:** From January to June 2020, we collected all the bacterial strains of the Enterobacteriaceae family. For the bacteriological and antibiogram study of the bacterial strains studied, we used conventional methods in bacteriology in accordance with the recommendations of CASFM 2020. The results were analyzed using SPSS software version 19.0. **Results:** During our study period, we observed that *E. coli* remains the most frequently isolated species with 70.3%, followed by *K. pneumoniae* with 16.9% however we found that *M. morgannii* occupied the last place with a frequency of 1.4%. The antibiotic resistance study revealed a high resistance to C3Gs, fluoroquinolones of the order of more than 50% on our strains isolated with the exception of *Shigella* spp. The High-level cephalosporinase and High-level penicillinase phenotypes were the most found in our bacterial strains isolated from our study population. The impermeability phenotype reflecting resistance to all the aminoglycosides tested was found in more than 10% of strains of *E. coli* and more than 3% of *K. pneumoniae* strains. For quinolones tested over 60% of *E. coli* and more than 40% of the strains of *K. pneumoniae*, presented a high level resistance which associates a concomitant alteration on the *2gyrA* genes and the *parC* gene.

**Conclusion:** This study shows the high level of resistance of our bacterial strains studied vis-à-vis the antibiotics tested. Only Imipeneme and Ertapeneme retain good antibacterial activity in our study.

**Keywords:** Resistance, antibiotics, enterobacteria, PA&KA laboratory in Bamako.

## **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 !