

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT REPUBLIQUE DU MALI
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

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°.....

THESE

**SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTE-
RIES ISOLEES DANS LES PRELEVEMENTS DE
PUS ET D'EXPECTORATIONS DE 2016 A 2018 A
L'INSP**

Présentée et soutenue publiquement le 10/08/2021 devant la

Faculté de Pharmacie

Par : Lassina SOGOBA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président: Pr Flabou BOUGOUDO

Membre: Dr Ibréhima GUINDO

Membre: Dr Mohamed AG BARAÏKA

Co-directeur: Dr Donato KOYALTA

Directeur: Pr Daouda Kassoum MINTA



FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.



PROFESSEURS HONORAIRES

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

PROFESSEURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES



1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

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

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

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

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
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	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
17	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
18	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

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

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

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

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

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

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
----	---------	-----	------------

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

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

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

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

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

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique

3	Blaise	DACKOUO	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

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

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

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

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

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie

3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
9	Modibo	SANGARE	Anglais
10	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
14	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

Bamako, le 07 septembre 2021

**P/Le Doyen PO
P/Le Secrétaire Principal PO
Le Chargé des examens**

**Dr Issa COULIBALY
Maître-assistant**



DEDICACES

Je dédie ce travail

A ALLAH, LE CLEMENT, LE MISERICORDIEUX, qui m'a donné la santé, la force et les moyens nécessaires pour mener à terme ce travail. Que Sa Bénédiction et Sa Protection accompagnent tous nos actes dans ce monde ici bas. Amen. Je rends également grâce au dernier des Prophètes, **MOHAMED**, Louanges et Paix sur Lui, Sa Famille et ses Compagnons. Amen.

A mon père Sidiki SOGOBA,

Pour son sens élevé du devoir, son goût pour le travail bien fait et sa disponibilité à donner une bonne éducation à ses enfants. Homme de foi, il a ouvert sa porte aux parents et amis pour le renforcement de la solidarité parentale. Il nous a toujours conseillé dans le bon sens et nous a assistés moralement, matériellement et financièrement. Qu'**ALLAH** t'accorde une longue vie et santé. **Amen**

A ma mère Aoua TANGARA,

Mère sensible au devenir de ses enfants, courageuse, attentive à tout ce qui se passe dans la famille, elle a su éduquer ses enfants dans le sens de l'honneur et du respect de l'autre. D'un franc parlé, ses conseils, son appui moral et financier ne nous ont jamais fait défaut. Qu'**ALLAH** t'accorde une longue vie et santé. **Amen**

A mes frères et sœurs : Dramane, Drissa, Bintou, Abdoul Karim, Nouhoum, Djélika et Souleymane

Vous avez tous et à tout les niveaux apporté votre contribution dans le cadre de la solidarité familiale. Avec chacun de vous, j'ai pu découvrir la convivialité et la symbiose qui doivent régner dans une famille. Puisse Dieu nous prêter encore longue vie et nous aider à rester unis pour la bonne marche de la famille. Votre amour et votre soutien ne m'a jamais fait défaut. Que les liens fraternels se resserrent davantage.

A ma femme Awa Diarra,

En reconnaissance de ton amour et de ton soutien moral. Je t'exprime toute ma gratitude.

REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma reconnaissance et mes vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation.

Principalement :

❖ **A tous mes maîtres** de l'enseignement primaire, secondaire et universitaire qui m'ont transmis leurs savoirs et leurs connaissances pendant mon parcours scolaire et universitaire.

❖ **Aux familles :**

✓ Sogoba à Kabala et Sirakoro-Minguetana

✓ Fofana à N'Tomikorobougou

✓ Koné au Point-G

Mes sincères reconnaissances!

❖ **A mes amis (es)** pour leur sympathie.

❖ **A mes camarades de la FMOS/FAPH**, sincères gratitude.

❖ **A mes voisins étudiants maliens et Ivoiriens dans la famille Koné au Point-G** pour leur relation de bon voisinage et leur conseil.

❖ **A nos cadets du service** pour leur respect à mon égard.

❖ **A ceux de ma promotion au service** pour leur esprit d'équipe et leur sympathie. Brillante carrière pharmaceutique à vous.

❖ **A l'Association des Elèves et Etudiants en Sante et Sympathisant du Cercle de Bla.**
Sincères gratitude

❖ **A tout le personnel du laboratoire de l'Institut National de la Santé Public** particulièrement au **Dr Ibrahim Guindo** et **Dr Diallo** pour leur accueil, leur aide et leur sympathie qui ont été des atouts précieux tout au long de ce parcours.

❖ **A tous les étudiants (es)** de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie et particulièrement à notre promotion « **N'Golo Diarra** » en souvenir des dures années de labeur passées ensemble.

❖ **A mes amis (es) et à toutes les personnes de bonne volonté** qui de près ou de loin n'ont ménagé aucun effort pour m'accompagner dans la réalisation de ce travail qui m'ouvrira les portes sur la vie professionnelle.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président de jury

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

- **Professeur Agrégé en bactériologie-virologie à la faculté de Pharmacie,**
- **Responsable de l'enseignement de la bactériologie-virologie à la faculté de Pharmacie,**
- **Directeur Général de l'INSP de 2002 à 2012,**
- **Officier de l'Ordre du mérite de la santé.**

Cher Maître vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

La clarté de votre enseignement, vos qualités humaines, sociales et scientifiques font de vous un Maître respectable et admiré. Votre disponibilité, votre rigueur dans le travail et vos qualités d'homme de science, de culture, font de vous un exemple à suivre.

Veillez accepter cher Maître, nos sincères remerciements.

A notre maître et juge

Docteur Ibréhima GUINDO

- **Pharmacien microbiologiste**
- **Chef de département du service de Bactériologie-virologie à l'INSP**
- **Maître assistant de Bactériologie-virologie à la faculté de Pharmacie**
- **Point focal de la RAM.**

C'est avec promptitude que vous avez accepté de juger notre travail. Votre sens du travail bien fait nous a profondément marqué. Recevez ici toute notre reconnaissance

A notre maître et juge

Docteur Mohamed AG BARAIKA

- **Pharmacien microbiologiste,**
- **Titulaire d'un PhD en Sciences biomédicales spécialité infectiologie tropicale,**
- **Maître assistant en Bactériologie-Virologie,**
- **Enseignant chercheur au CRLD.**

C'est pour nous un honneur de vous avoir comme juge de notre travail. Malgré vos multiples occupations, vous vous êtes rendu disponible. Recevez ici l'expression de nos hommages respectueux

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Daouda Kassoum MINTA

- **Professeur titulaire des universités,**
- **Agrégé de Maladies Infectieuses et Tropicales,**
- **Directeur du centre d'excellence de lutte contre le VIH,**
- **Chargé de cours de parasitologie et de thérapeutiques à la FMOS,**
- **Vice-président de la Société Africaine de Pathologie Infectieuses.**

Cher Maître, en plus de votre statut de chercheur confirmé et aguerri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail. Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admiré de tous.

Soyez assuré, cher maître, de notre sincère admiration et de notre profonde gratitude. Nous vous réitérons tous nos remerciements.

A notre Maître et co-directeur

Docteur Donato KOYALTA

➤ **Maître-assistant de la Bactériologie-Virologie à la Faculté des sciences de la santé humaine de DJAMENA.**

Vous nous avez fait l'honneur de diriger cette thèse. Grâce à votre accueil, votre disponibilité, vos conseils et votre bienveillance, nous sommes arrivés à bout. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude. Soyez assuré, cher Maître de notre sincère admiration, de notre profonde gratitude.

Sigles et liste des abréviations

A : Amikacine

ADH : Arginine Dihydrolase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMP : Adénosine Mono phosphate

ANT ou AAD : Nucléotidyltransférases ou O-adénylyl

API 20 E : Appareil pour Identification de 20 Entérobactéries

BLSE : Bêta-lactamase à spectre élargie

BMR: Bactéries Multi Résistantes

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CI: Case Inductible

CIT : Citrate de simmons

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CSCOM : Centre de Santé Communautaire

CSRéf : Centre de Santé de Référence

EPA : Etablissement Public à caractère Administratif

Erm: Erythromycine

EPST : Etablissement Public à Caractère Scientifique et Technologique

G : Gentamicine

GEL :Gelatinase

GT : Gentamicine, Tobramicine

H₂S: Dihydrosulfure

INSP : Institut National de la Santé Publique

L: Lincomycine

LDC : Lysine Décarboxylase

LPL : Protéines liant les Pénicillines

MLSB : Macrolides, Lincosamides et Streptogramines de type B

NIT : Nitrate réductase

ODC : Ornithine Décarboxylase

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPG: Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside

ORL: Oto-rhino-laryngologie

Oxa-R: Oxacilline Résistant

Oxa-S: Oxacilline Sensible

PABA : Acide Para-Aminobenzoïque

PBN : Phénotype de Bas Niveau

Péni-R : Pénicilline Résistant

Péni-S : Pénicilline Sensible

PHN : Phénotype de Haut Niveau

PS : Phénotype Sauvage

QRDR : Quinolone Resistance-Determining Région

R : Résistant

RAM : Résistance aux Antimicrobiens

S : Sensible

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

TA : Tobramicine, Amikacine

TDA : Tryptophane Désaminase

URE : Uréase

VP1 et VP2 : Réactif de VogesProskauer

% : Pourcentage

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau I : répartition des échantillons selon l'origine.....	37
Tableau II : répartition des échantillons selon le service.....	38
Tableau III : répartition bactérienne.....	39
Tableau IV : répartition des souches isolées.....	40
Tableau V : sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques.....	41,42
Tableau VI : sensibilité des autres bacilles à Gram négatif aux antibiotiques.....	43
Tableau VII : sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	44
Tableau VIII : sensibilité des souches de Streptocoques aux antibiotiques.....	45
Tableau IX : phénotype de résistance des souches de <i>Klebsiella</i> aux bêta-lactamines.....	46
Tableau X : phénotype de résistance des souches de <i>Klebsiella spp</i> aux aminosides.....	46
Tableau XI : phénotype de résistance des souches de <i>Klebsiella spp</i> aux quinolones.....	46
Tableau XII : phénotype de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> aux bêta-lactamines.....	47
Tableau XIII : phénotype de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> aux aminosides.....	47
Tableau XIV : phénotype de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> aux quinolones.....	47
Tableau XV : phénotype de résistance des souches d' <i>Enterobacter</i> aux bêta-lactamines.....	48
Tableau XVI : phénotype de résistance des souches d' <i>Enterobacter</i> aux aminosides.....	48
Tableau XVII : phénotype de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	49
Tableau XVIII : phénotype de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux macrolides.....	49
Tableau XIX : répartition des bactéries multi résistante (BMR) aux antibiotiques.....	50

LISTE DES FIGURES

Figure1 : les principales cibles des antibiotiques et autres.....	7
Figure2: les deux types de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	16

TABLE DES MATIERES

I. Introduction.....	1, 2
1.1 Objectif général.....	3
1.2 Objectifs spécifiques.....	3
II. Généralités.....	4
2.1 Historique des antibiotiques et de la résistance.....	4
2.2 La place des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique.....	5
2.3 Définition des antibiotiques.....	5
2.4 Origine des antibiotiques.....	5, 6
2.5 Mécanisme d'action et spectres d'activités des antibiotiques.....	6
2.5.1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane.....	7, 10
2.5.2 Antibiotiques inhibant la membrane d'enveloppe de la cellule bactérienne.....	10
2.5.3 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines.....	10, 12
2.5.4 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques.....	13
2.5.5 Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire.....	14
2.6 Résistance aux antibiotiques.....	14
2.6.1 Définition de la résistance.....	14
2.6.2 Résistance génétique.....	14
2.6.3 Résistance microbiologique.....	14
2.6.4 Résistance clinique.....	14, 15
2.6.5 Mécanismes génétiques de la résistance.....	15
2.6.6 Mécanisme biochimique de la résistance aux antibiotiques.....	17, 20
2.6.7 Un nouveau mécanisme de résistance d'origine inconnu.....	20
2.6.8 Facteur de risques de la résistance aux antibiotiques.....	21, 23
III. Méthodologie.....	24
3.1 Lieu d'étude.....	24
3.2 Période et type d'étude.....	25
3.3 Echantillonnage	26
3.4 Collecte de donnée.....	26

3.5 Matériels et Méthodes.....	26, 36
3.6 Analyse et saisie des données.....	36
IV. Résultats.....	37, 50
V. Discussion.....	51, 54
VI. Conclusion.....	55
VII. Recommandations.....	56
VIII. Références bibliographiques.....	57, 62

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Elle atteint désormais des proportions dangereuses dans toutes les régions du monde. Chaque jour, de nouveaux mécanismes de résistance voient le jour et se propagent à l'échelle mondiale, compromettant notre capacité de traiter les maladies infectieuses les plus courantes [1-2].

La résistance aux antibiotiques compromet également les acquis de la médecine moderne. En l'absence des antibiotiques efficaces pour prévenir et traiter les infections, les greffes d'organes, la chimiothérapie et certaines interventions chirurgicales deviendront beaucoup plus dangereuses [3].

Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays. C'est un phénomène naturel mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal révèle le processus. La résistance aux antibiotiques entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité [4].

Sur le plan international, on s'inquiète de plus en plus de la résistance aux antimicrobiens (RAM), qui est actuellement estimée à plus de 700000 décès par an dans le monde. Si aucune mesure appropriée n'est prise pour arrêter ces progrès, la RAM coûtera environ 10 millions de vies et environ 100 milliards de dollars américains par an d'ici 2050. Malgré la menace présentée par la RAM, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) décrit des lacunes importantes dans la surveillance, la standardisation des méthodes et le partage de données [5]. Le rapport 2014 de l'OMS a identifié l'Afrique et l'Asie du Sud-est comme les régions sans système de surveillance de la résistance aux antimicrobiens établis. Ce manque de données de qualité est problématique, conduisant souvent à des directives de traitement qui ne sont pas adaptées à la situation locale [5].

Un premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques a dressé un tableau très complet de la résistance actuelle aux antibiotiques à travers les données provenant de 114 pays. Ce rapport a fait état de la présence d'une résistance aux antibiotiques dans toutes les régions du monde et a accordé une grande priorité à la lutte contre l'antibiorésistance. Un plan d'action pour combattre la résistance aux antibiotiques a été mis en place et a été approuvé par l'Assemblée mondiale de la Santé en mai 2015 [1].

Malgré l'importance du problème et de ses conséquences sanitaires et économiques, rares sont les pays d'Afrique de l'ouest qui disposent de programme national de surveillance et de lutte contre la résistance comme le recommande l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [6].

Au Mali un plan national de lutte contre la RAM a été élaboré et basé sur les objectifs stratégiques du plan d'action mondial. Un système de surveillance de la résistance à été mis en place et est implémenté sur 5 sites sentinelles. C'est un système de surveillance basé sur le patient et réalisé à partir de l'hémoculture et d'examen cyto bactériologique des urines.

A l'INSP, l'examen de routine des prélèvements de pus et d'expectoration occupent une place importante pour la qualité des soins, le suivie des malades ainsi que la surveillance des maladies et l'objectif final de ces examens est d'identifier la plupart des bactéries responsables d'infection permettant ainsi au clinicien pour définir les stratégies thérapeutiques et procéder aux choix d'antibiotiques efficaces. C'est ainsi que la surveillance de la sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques reste impératif pour chaque pays qui doit prendre en compte pour un meilleur contrôle des infections.

Ainsi de nombreuses études ont montré que :

- Au Benin en 2005, SOUDE a rapporté 6,3% de sensibilité à l'ampicilline sur les souches d'*Escherichia colidans* les prélèvements d'hémocultures [7].
- Selon DIAKITE en 2001 dans une étude bactériologique des suppurations examinées au laboratoire bactériologique de l'INSP, 90% des *Staphylocoques* étaient résistants à la pénicilline G (péniR) [8].
- En 2009, des bactéries isolées en routine dans divers prélèvement à l'INSP, KANTE a rapportée une résistance de 96,2% de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline G[9]; la même année KEITA a montrée que *Staphylococcus aureus* était moins sensible à la pénicilline G avec 2,5% des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires [10].

Le comportement des bactéries vis-à-vis des antibiotiques des données citées ci-dessus, nous montre la grande capacité des bactéries à résister aux antibiotiques. C'est dans ce présent contexte que nous avons été amenés à entreprendre ce travail sur la sensibilité des bactéries isolées dans les prélèvements de pus et d'expectoration, vis-à-vis des antibiotiques.

Question de recherche

Le comportement des bactéries isolées des suppurations et d'expectoration présente-t-il des niveaux de sensibilités élevées vis-à-vis des antibiotiques de 2016 à 2018 ?

Hypothèse de recherche

Le comportement des bactéries isolées des suppurations et d'expectoration présente des niveaux de sensibilités élevées vis-à-vis des antibiotiques de 2016 à 2018.

Les objectifs de notre étude étaient les suivants :

1.1 Objectif général :

Evaluer la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des prélèvements de pus et d'expectorations de 2016 à 2018 à l'Institut National de Santé Publique (INSP).

1.2 Objectifs spécifiques :

- Déterminer la fréquence des bactéries isolées des prélèvements de pus et d'expectoration ;
- Déterminer la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques ;
- Identifier les phénotypes de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques ;
- Identifier les bactéries multi résistantes aux antibiotiques.

2. GENERALITES

2.1 Historique des antibiotiques et de la résistance

En 1928, le médecin britannique Alexander Fleming a découvert que les bactéries ne croissaient pas en présence de la moisissure *Penicillium*. Ce n'est qu'à la fin de la deuxième guerre mondiale, soit plus d'une décennie plus tard, que la pénicilline est devenue le premier antibiotique à être utilisé de façon répandue. La pénicilline a rapidement été suivie par d'autres antibiotiques, ouvrant ainsi une nouvelle ère de traitements médicaux dans laquelle on réussissait à sauver plus de vie. La science médicale a alors utilisé les antibiotiques non seulement pour traiter les maladies, mais aussi pour donner accès à des interventions chirurgicales qui auraient été trop risquées sans la disponibilité d'antibiotiques permettant de combattre le risque accru d'infection. À titre d'exemple, lors de greffes d'organes, on doit supprimer le système immunitaire, mais on se fie aux antibiotiques pour combattre l'infection. Entre 1945 et la fin des années 80, le rythme de la création de nouveaux antimicrobiens devançait la progression de la résistance que développaient les bactéries. Dans les années 50 et 60, on a développé de nouvelles catégories d'antibiotiques. Cependant, dans les années 80 et 90, les recherches scientifiques n'ont pas produit de nouvelles catégories d'antibiotiques. Ses résultats se sont plutôt limités à des améliorations au sein des catégories existantes. À la fin du 20^{ème} siècle, après seulement 50 ans d'utilisation, quelques antibiotiques ne réussissaient plus à vaincre certaines bactéries. Il existe maintenant au Japon des souches de *Staphylococcus aureus* (la soi-disant infection « Staph ») et de *Pseudomonas aeruginosa* qui résistent à tous les agents antibactériens connus. Les micro-organismes pathogènes hautement virulents et de plus en plus résistants aux antimicrobiens tels que le *Staph* sont maintenant des sources importantes de propagation d'infection en milieu hospitalier. Les résidences de personnes âgées constituent une autre zone dangereuse pour les infections résistantes aux antimicrobiens, ce qui entraîne parfois des conséquences mortelles. La première souche de SARM (le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) a été observée en Ontario en 1981. Depuis, on a signalé des foyers d'infection dans tout le Canada. Certaines infections d'origine bactérienne ne peuvent être traitées qu'à l'aide de la Vancomycine, la dernière ligne de défense antibiotique dans l'arsenal de la science médicale. La recherche continue et on découvre de nouvelles thérapies tous les ans. Cependant, les bactéries vont inmanquablement développer une résistance aux nouveaux médicaments et ces derniers seront aussi inefficaces tôt ou tard [11].

2.2 La place des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique Les antibiotiques occupent une place particulière dans l'arsenal thérapeutique pour plusieurs raisons parmi lesquelles on cite : [12]

- La fréquence de leur prescription

- La classe thérapeutique qui comporte un grand nombre de molécule
- La variation de l'efficacité pharmacologique pour une même bactérie c'est-à-dire elle varie selon l'époque, le site infecté et la localisation géographique

Ces antibiotiques bien qu'ils obéissent aux lois classiques pharmacologiques, ils se différencient des autres classes thérapeutiques par la nature de cible c'est-à-dire ils ne s'adressent pas à une cellule de l'hôte lui-même mais à un être vivant qui est l'agent infectieux ayant ses propres lois de multiplication et d'effet pathogène dans un tissu particulier [13]. Ils se différencient aussi par leurs effets indésirables par la possibilité de modification de la flore microbienne du patient, ce qui peut entraîner le développement ou la sélection des souches résistantes non seulement à l'antibiotique administré mais aussi d'autre agent anti-infectieux [14].

2.3 Définition des antibiotiques

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des micro-organismes ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes en solution diluée. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit de types de bactéries différentes, plus son spectre est large. L'antibiotique est soit bactériostatique et/ou bactéricide. On définit plusieurs familles d'antibiotiques en fonction de leur nature chimique, de leur mécanisme d'action, de l'étendue de leur spectre [15].

Les antibiotiques sont caractérisés par : [16]

- Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- Toxicité sélective (mode d'action)
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

2.4 Origine des antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origines naturelle ou synthétique [17].

2.4.1 D'origine naturelle :

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde:

- 20 % proviennent de champignons : Penicillium, Cephalosporium, Aspergillus.
- 70 % proviennent d'actinomycètes micro filaments dont le genre Streptomyces est un producteur majeur d'antibiotiques : tétracyclines, aminoglycosides. Entre 1998 et 1992, 1000 nouveaux agents anti-infectieux issus des actinomycètes ont été isolés.
- 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres Bacillus et Pseudomonas. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple.

2.4.2 D'origine synthétique :

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes.

Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue: Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique (1962) et les fluoroquinolones, pénèmes (1976). On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme.

2.5 Mécanisme d'action et spectres d'activités des antibiotiques

L'action des antibiotiques est basé sur le principe de la toxicité sélective c'est-à-dire la substance inhibe ou tue l'agent infectieux mais tolérée par l'hôte: action d'antibiotique sur un cible qui se trouve chez la bactérie et absent ou suffisamment différent chez l'hôte.

On distingue 4 cibles principales, correspondre à 4 niveaux d'action [18]:

- La synthèse de la paroi bactérienne
- La synthèse de la membrane cytoplasmique
- La synthèse protéique
- La synthèse des acides nucléiques
- Métabolisme intermédiaire

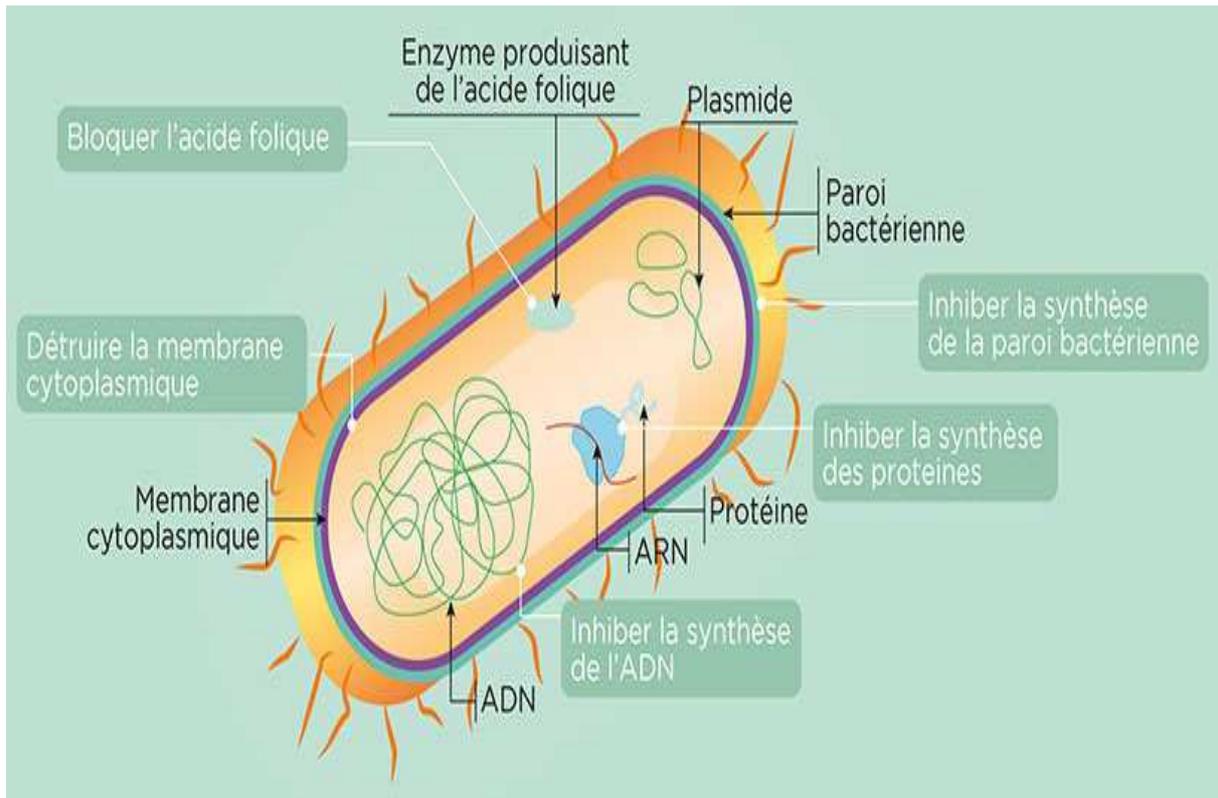


Figure1 : Les principales cibles des antibiotiques et autres [17]

2.5.1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane :

Ce sont : les bêta-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine.

2.5.1.1 Les bêta-lactamines :

Mécanisme d'action : les bêta -lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, notamment la transpeptidation. Elles se fixent sur les enzymes de la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane selon leur affinité pour une ou plusieurs PLP (protéines - liant les pénicillines), en particulier sur la transpeptidase. Ceci conduit sauf exception à l'inhibition de la synthèse de l'ARN, et celle de l'ADN, et enfin à la mise en jeu du système autolytique de la barrière (muréine-hydrolydase). Les bêta-lactamines ont habituellement un effet bactéricide qui s'exerce sur les bactéries en phase de multiplication active [18, 19].

Spectre d'activité et classification :

- **Pénicillines** [20, 21] : ce sont des substances à fonction acide ayant en commun un noyau, l'acide-6-amino-pénicillanique constitué par l'accolement d' cycle bêta- lactame et un cycle thiazolidine avec un radical R Variable. L'activité des pénicillines varie en fonction de la nature de ce radical R.

- **Groupe de la pénicilline G :**

La pénicilline G et tous ses sels et esters sont administrés par voie parentérale. Ils ont un spectre, excluant la plupart des bactéries à Gram négatif et agissant essentiellement sur des bactéries à Gram positif. Cependant ils sont hydrolysés par les bêta-lactames et sont donc sans action sur les souches sécrétant ces enzymes en particulier les Staphylocoques. La pénicillines V (phénoxy-pénicilline), ayant le même spectre. La pénicilline G à l'avantage d'être active par la voie orale. Elle est aussi hydrolysée par les bêta-lactamases (pénicillinase).

- **Groupe des pénicillines à large spectre :**

- Méticilline et analogues : ces produits ont le même spectre antibactérien que les précédents, mais se caractérisent par une grande résistance aux pénicillinases du *Staphylocoque*.
- Aminopénicillines: ampicilline et analogues. Ils ont un spectre élargi aux bacilles à Gram négatif. Ils sont également détruits par les pénicillinases.
- Aminopénicillines:Mécillinam : il a un spectre étroit, limité uniquement aux bacilles à Gram négatif. C'est un antibiotique à visée urinaire.
- Carboxypénicillines : ce sont la ticarcilline et la carbénicilline ces produits sont des pénicillines hémi-synthétiques. Ils ont l'avantage d'être actifs sur le bacille pyocyanique et sur certaines souches productrices de cephalosporinases.
- Uréidopénicillines : ce sont la pipéracilline, la mezlocilline l'azlocilline et l'apalcilline. Ils sont actifs sur le bacille pyocyanique et résistent à certaines pénicillinases et céphalosporines.

- **Céphalosporines [21, 22] : elles sont classées en génération**

- **Céphalosporines de première génération :**

Céfalotine (Keflin®) ;

Céfacectriole (Célospor®) ;

Céfapirine (Céfaloject®) ; Céfaloportidine (Céporine®,Kéflotin®) ;

Céfazoline (Kelzol®, Céfacidol®) ;

Céfradine (Eskacef®), Vélocef®) ;

Céfalexine (Kéforale®, Céporxine®) ;

Céfaclor (Alfatil®) ;

Céfatrizine (Céfaperos®) ;

Céfadroxyl (Oracéfal®, Biodroxyl®)

Leur spectre englobe celui des pénicillines M et des aminopénicillines.Elles résistent à la pénicillinase Staphylococcique et sont actives sur certains bacilles producteurs de pénicillinases.

Elles sont cependant détruites par les cephalosporinases des *Enterobacter*, *Serratia*, *Acinetobacter* et *Proteus* indole positif par ouverture du cycle bêta lactame. Elles sont par contre moins actives que la pénicilline G sur les *Streptocoques* en particulier *Streptococcus pneumoniae*.

○ **Céphalosporines de deuxième génération :**

Céfamandole (Kéfandol®) ;

Céfuroxime (Curoxime®) ;

Céfoxitine (Méfoxine®) ;

Elles se distinguent des premières par une résistance accrue vis-à-vis descéphalosporinases et un gain d'activité sur les souches sensibles.

○ **Céphalosporines de troisième génération :**

Céfotaxime (Claforan®) ;

Céftriaxone (Rocephine®, Mespurin®) ;

Céftizoxime (Ceftizox®), Céfopérazone (Cefobis®) ;

Céftazidime (Fortum®);

Céfotetam (Apocef®);

Latamocef (Moxalactam®);

Céfotiam (Pansporine®); Céfixime (Oroken®);

Elles sont différentes des deux premières par une meilleure activité sur les souches sensibles, une certaines activité sur le bacille pyocyanique, une bonne diffusion dans le liquide céphalo-rachidien et une plus grande résistance aux céphalosporines.

• **Carbapénémase :** Imipenème

L'Imipenème se caractérise particulièrement par sa résistance vis-à-vis des bêta- lactamases à spectre élargi.

• **Monobactam:** Azotreonam

Il présente le même spectre d'activité que les céphalosporines de 3^{ème} génération et résistent plus ou moins aux bêta-lactamases. Son spectre d'activité est limité aux bactéries à Gram négatif.

2.5.1.2 Les Glycopeptides, Vancomycine et Teicoplanine[18]

Ces antibiotiques agissent en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane .Les glycolipides prennent une forme de bracelet permettant d'entourer leur cible préférentielle (la surface externe de la membrane cytoplasmique et la paroi bactérienne) qui est le D-alanyl-D-alanine terminal du pentapeptide .Ils bloquent l'action des transglycosylates qui fixent le penta peptide à un autre disaccharide déjà lié au peptidoglycane.

Elles sont inactives sur les bacilles à Gram négatif car ne pouvant pas traverser la membrane externe bien qu'hydrophiles du fait de leur masse.

Spectre : le spectre est étroit et limité aux bactéries à Gram positif, en particulier les *Staphylococcus* et les *Streptococcus* au cours des infections graves comme les septicémies et les endocardites. Ce sont des produits non absorbés par la voie digestive, c'est pourquoi la vancomycine est indiquée dans le traitement de la colite pseudo-membranaire due à la *Clostridium difficile*. Il s'agit d'antibiotiques toxiques qui peuvent être responsables de phlébites du niveau des points d'injection, d'éruptions cutanées et de surdité surtout chez l'insuffisant rénal.

2.5.1.3 Les Fosfomycines [18]

La fosfomycine inhibe la première étape de la synthèse du peptidoglycane. Elle agit comme un analogue du phospho-énol-pyruvate et se lie de façon covalente à la pyruvyl-transferase qui ne peut donc plus assurer la condensation de l'uridine-diphosphate-N-cetyl-glucosamine avec le phospho-énol-pyruvate. L'activité bactéricide est lente.

2.5.2 Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique

Parmi ces antibiotiques on distingue les polymyxines qui sont actifs que sur les bactéries Gram négatif. Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de polymyxine va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie [23].

Spectre : le spectre est étroit. Les polymyxines sont actives sur les bactéries à Gram négatif à l'exclusion des *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* et les anaérobies.

2.5.3 Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique

2.5.3.1 Aminosides ou Aminoglycosides [24, 18]

- Aminosides administrables par la voie orale : Streptomycine et dihydrostreptomycine, kanamycine, tobramycine, dibécacine, amikacine, sisomicine, nétilmicine.
- Aminosides administrables par voie locale : Néomycine, paromomycine, framycétine.
- Aminocyclitols proches des aminosides : Streptomycine

Spectre : les aminosides sont des antibiotiques à spectre large et ont une activité bactéricide. Les Streptocoques et les Listeria sont cependant peu sensibles. Les bactéries anaérobies sont résistantes.

Action sur les autres cibles bactériennes : Les aminosides agissent aussi par une désorganisation de la membrane bactérienne, entraînant une modification du transport des électrons, une altération de la synthèse de l'ADN et une dégradation non spécifique de certains ARN. Ils sont caractérisés par :

- Des mécanismes d'action multiples ;
- Un effet bactéricide à la fois important, très rapide et indépendant de la densité bactérienne ;
- Une durée d'activité très supérieure au temps d'exposition correspondant à un « effet post antibiotique » marqué.

Ce sont des antibiotiques à large spectre, actifs essentiellement sur les germes à Gram négatif aérobies (bacilles, cocci et coccobacilles) et aussi sur les *Staphylocoques* et les bactéries à Gram positif.

La streptomycine et la kanamycine sont actives sur *Mycobacterium tuberculosis* (à un degré moindre) L'amikacine est active sur les mycobactéries atypiques et sur *Nocardia* astéroïdes. La paromomycine est active sur les protozoaires (*Entamoebahistolytica*) et sur les helminthes (Ténia).

Les *Streptocoques* et les *Listeria* sont peu sensibles. Les bactéries à Gram positif sont habituellement résistantes.

2.5.3.2 Les Tétracyclines[18]

Les tétracyclines empêchent la fixation des aminoacyl-ARN sur le site A des ribosomes. Ils inhibent la synthèse des protéines par fixation à la fraction 30S des ribosomes bactériens et cette action est bactériostatique. En outre elles altèrent la membrane cytoplasmique ; ce qui inhiberait la réplication de l'ADN par perte de nucléotides.

Spectre : le spectre est le même pour toutes les tétracyclines .Les différences concernent les propriétés pharmacologiques. Elles sont actives sur les bactéries à Gram positif, les bactéries à Gram négatif y compris les *Rickettsies*, *Chlamydia* et les *Mycoplasmes*. Il existe une résistance croisée entre toutes les tétracyclines. Cependant certaines souches résistant à la majorité des tétracyclines peuvent être sensibles à la doxycycline et à la minocycline du fait de l'intensité action de ces deux molécules.

2.5.3.3 Les Phénicolés[25, 18]

Ils agissent par inhibition de la synthèse des protéines en se fixant sur la fraction 30S du ribosome. Cette action est bactériostatique mais peut être bactéricide vis-à-vis de certaines espèces.

Spectre : le spectre est large comprenant les bactéries à Gram positif, négatif, aérobies et anaérobies. Le chloramphénicol est préférentiellement indiqué dans le traitement des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes ainsi que dans celui des méningites à méningocoque et à *Haemophilus influenza B*. La résistance est croisée entre le chloramphénicol et lethiamphénicol.

2.5.3.4 Acide fusidique [26, 18]

L'acide fusidique agit sur la synthèse protéique en inhibant le facteur d'élongation G (Translocase) ; ce qui bloque la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous-unité 50S du ribosome. Ce mécanisme d'action spécifique explique l'absence de résistance croisée entre l'acide fusidique et les autres antibiotiques, en particulier lamécilline et apparentés.

Spectre : le spectre est limité aux bactéries à Gram positif et principalement indiqué dans les infections à *Staphylocoque*. Les *Streptocoques* lui sont moins sensibles. Les cocci à Gram négatif peuvent être sensibles. La sélectivité des souches résistantes est rapide, ce qui amène à l'association avec les pénicillines du groupe M ou les Aminosides.

2.5.3.5 Macrolides, lincosamides et streptogramines[27, 19]

Ces trois groupes antibiotiques présentent de nombreux points communs dans leurs propriétés et surtout en ce qui concerne leur spectre antibactérien et leur mode d'action ; ce qui justifie leur rapprochement bien que leurs structures soient différentes.

Ce sont des inhibiteurs de la peptidyl-transférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique au niveau de la sous unité 50S du ribosome. Ils empêchent ainsi la réunion des deux sous unités par une inhibition compétitive du dernier stade de la synthèse des protéines.

Spectre : il est étroit et limité aux bactéries à Gram positif, en général les cocci. Ils sont souvent actifs sur les cocci à Gram négatif (*Neisseria*). Les macrolides, vraies sont actifs sur les *Legionella*, le *Campilobacter*, le *Chlamydia* et les *Mycoplasmes*.

Cas particulier des Streptogramines ou Synergistines : ce sont des molécules composées de deux fractions antibiotiques A et B. La fraction A est un antibiotique de type macrolidique et la fraction B agirait sur la liaison peptidique en induisant le détachement prématuré de la chaîne peptidique.

Deux molécules sont utilisées : pristinamycine et la virginamycine La grande majorité des Staphylocoques quelque soit leur phénotype de résistance sont sensibles aux streptogramines de même que les *Streptocoques*, les *Pneumocoques*, les *Méningocoques* et les *Gonocoques* producteurs ou non de bêta-lactamases.

2.5.4 Les antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement de l'ADN

2.5.4.1 La Rifampicine[18]

Ces produits inhibent la synthèse de l'ARN messager par blocage de la transcriptase qui est une ARN polymérase ADN dépendant par fixation sur les deux sous-unités bêta. Elles empêchent l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN et son élongation. Spectre : elle a un spectre large étendu aux bactéries à Gram négatif, aux cocci à Gram positif et aux *Mycobactéries*. Elle est active à très faible dose sur les *Staphylocoques*.

2.5.4.2 Les Quinolones[28, 18]

Ces antibiotiques inhibent la réplication de l'ADN leur action se situe à différentes étapes de la synthèse de l'acide nucléique. Les quinolones agissent par inaction de l'ADNgyrase formé de deux sous-unités (gyraseA et gyraseB) et/ou la topo-isomérase II responsable du sur enroulement de l'ADN des bactéries. Le mécanisme moléculaire est mal élucidé et reste encore controversé.

Spectre :

- Les quinolones de premières génération : ils sont actifs sur les bactéries à Gram négatif principalement les entérobactéries. Ils diffusent très peu dans l'organisme et sont éliminés par les urines.
- Les Fluoroquinolones : leur spectre comprend, les entérobactéries, le bacille Pyocyanique, l'*Acinetobacter*, *Legionella*, *Haemophilus*, *Staphylocoques* et certaines cocci à Gram positif. Certains produits sont mêmes actifs sur les *Mycobactéries* et les *Chlamydia*. En revanche certaines bactéries comme les *Listeria*, *Streptocoques* et les Bactéroïdes sont peu sensibles.

2.5.4.3 Les Nitrofuranes [18]

Spectre : ce sont des antibiotiques à large spectre. Toute fois le bacille Pyocyanique, les Proteus et les *Serratia* (Entérobactéries) leur sont résistants. Ils sont utilisés pour traiter les infections digestives et urinaires.

- Infection digestives : nifuroxazide ;
- Infection urinaires : nitrofurantoïne.

2.5.5 Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire

5.5.1 Sulfamides et Diaminopyrimidines[29, 18]

Ce sont des inhibiteurs de l'acide nucléique car ils inhibent la synthèse des folates précurseurs des acides nucléiques.

Ce sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse de l'acide tétra-hydrofolique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques constitutives de l'ADN bactérien. Les sulfamides se comportent comme des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) ; molécule représentant le point de départ de la synthèse des folates.

Ils bloquent ainsi par inhibition compétitive la dihydroptéroate- synthétase (DHPS) qui catalyse la première réaction de cette chaîne métabolique. Cette activité est bactériostatique. Les diaminopyrimidines(triméthoprime) agissent par inhibition de la dihydrofolate-réductase (DHFR) qui permet la réduction de l'acide hydrofolique en acide tétrahydrofolique. Cette

action bactériostatique quelque fois bactéricide. Le triméthoprim est surtout utilisé en association avec les sulfamides, cette action est bactéricide par effet synergique.

Spectre : le spectre est large mais certaines espèces comme les entérocoques, le bacille pyocyanique et les lactobacilles sont peu sensibles.

2.6. Résistance bactérienne aux antibiotiques

2.6.1 Définition de la résistance

D'un point de vue strictement bactériologique, une souche bactérienne devient résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe normalement les souches sensibles de l'espèce [30].

2.6.2 Résistance génétique:

La résistance génétique peut être définie comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré.

2.6.3 Résistance microbiologique:

La résistance microbiologique se traduit par l'absence de croissance d'une souche bactérienne en présence d'un antibiotique. Cette résistance microbienne est en fonction de la concentration sérique que peut atteindre un antibiotique.

2.6.4 Résistance clinique:

La résistance clinique est la plus pertinente dans le cadre de la pratique médicale courante, puisqu'elle se traduit par l'échec clinique d'une antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc..) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique [31].

2.6.5 Mécanismes génétiques de la résistance :

Le support génétique de la résistance est porté sur le chromosome bactérien, ou sur le plasmide. Les gènes de résistance sont utiles aux bactéries et sont facilement transférables et fréquemment portés par des éléments génétiques mobiles.

Il existe deux grands types de la résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque et la résistance acquise (**Figure2**). On parle également de résistance croisée et de co-résistance.

2.6.5.1 La résistance naturelle :

La résistance intrinsèque ou naturelle est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien, cette résistance délimite le spectre d'action des antibiotiques.

Exemple: la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc...) [32, 33].

2.6.5.2 La résistance acquise :

N'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre. Dans certains cas, elle peut concerner la grande majorité de ces souches comme la production de pénicillinase chez le *Staphylococcus aureus* qui intéresse plus de 90 % des souches.

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes: soit des mutations dans le génome on parlera alors de transmission verticale à la descendance, c'est un phénomène rare, spécifique qui affecte un antibiotique ou une famille des antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action.

Soit, la résistance peut survenir également suite à l'acquisition d'une information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries. Il s'agit d'une acquisition d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmide, et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance. Ce transfert horizontal de la résistance peut se faire entre les bactéries de la même espèce ou des espèces différentes selon trois mécanismes différents: dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN nu par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre de la même espèce ou d'espèce différente).

Les résistances plasmidiques peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques. Elles représentent le mécanisme de résistance le plus répandu, soit 80 % des résistances acquises.

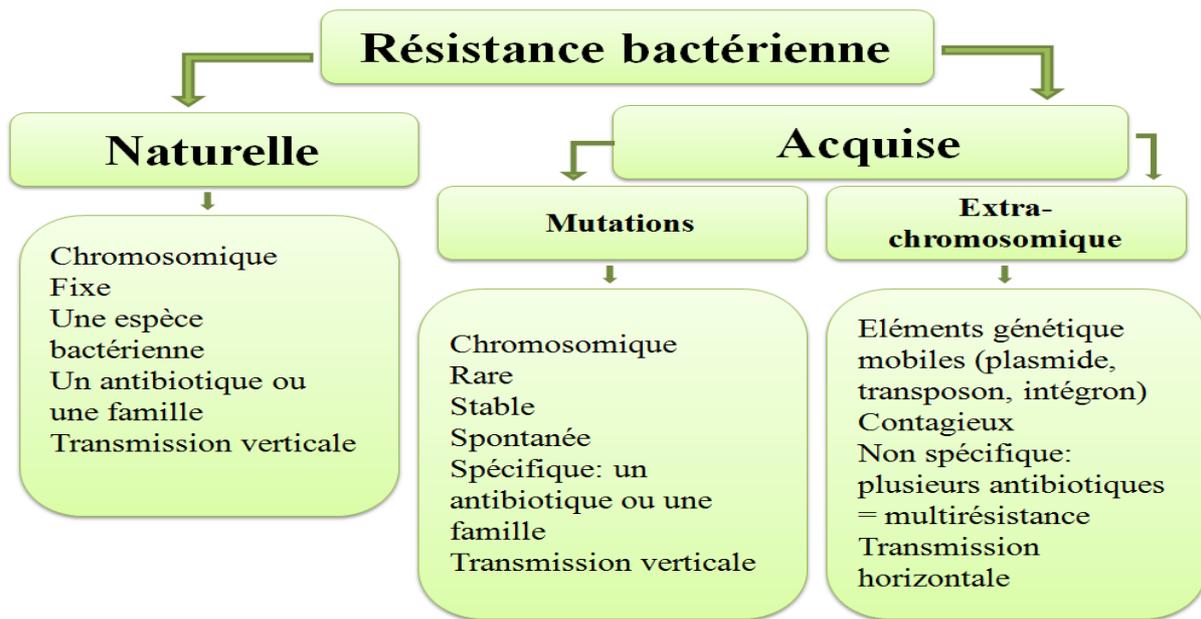


Figure2:Les deux types de la résistance bactérienne aux antibiotiques [34]

2.6.5.3 La Résistance croisée :

La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotique, due à un seul mécanisme de résistance (mécanisme commun), elle est de niveau variable selon les antibiotiques. Parmi les nombreux cas de résistance croisée, on peut citer les mutations dans les topoisomérases de type II, gyrase et topoisomérases IV, conférant la résistance aux Fluoroquinolones. La conséquence majeure de la résistance croisée est la sélection croisée: n'importe quel antibiotique de la classe peut sélectionner des bactéries résistantes à tous les autres membres.

2.6.5.4 La Co-résistance :

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte.

Là encore, la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection: dans ce cas, une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées. Ceci est observé fréquemment chez le pneumocoque, les souches résistantes à la Pénicilline G sont beaucoup plus fréquemment résistantes aux autres classes d'antibiotiques [32].

2.6.6 Mécanisme biochimique de la résistance aux antibiotiques

Dans ce mécanisme on distingue 3 grands groupes de mécanismes:

- Diminution de la perméabilité et efflux actif ;
- Modification de la cible des antibiotiques ;
- Production d'enzymes inactivant les antibiotiques.

2.6.6.1 Diminution de la perméabilité et efflux actif

- Diminution de la perméabilité:

Une diminution de la perméabilité résulte souvent d'une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines. C'est chez *Escherichiacoli*, les *Enterobacterspp*, les *Serratiaspp*, les *Klebsiellaspp* et *Pseudomonasaeruginosa* que ce mécanisme a le plus d'importance: une ou plusieurs modifications des porines sont à l'origine d'une résistance acquise aux bêta-lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprime et aux tétracyclines.

Dans le cas des aminosides, l'imperméabilité résulte d'un mécanisme différent. Elle est due à des mutations modifiant le système de transport actif de ces molécules et provoquant une diminution d'activité de tous les aminosides [35].

- Efflux actif:

Ce type de résistance est largement répondu chez les bacilles Gram négatifs. Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent conduire à une sur-expression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques. Ainsi, la mutation des gènes mar-RABd'*Escherichia coli* entraîne une résistance aux quinolones, au chloramphénicol et aux tétracyclines.

Une acquisition de gènes peut être à l'origine de systèmes d'efflux spécifiques. Contrairement aux systèmes d'efflux multi-drogues, les systèmes d'efflux spécifiques ne permettent que l'exportation de molécules apparentées.

Le Premier exemple connu de résistance acquise par efflux transmembranaire spécifique est celui des tétracyclines. Des transposons (Tn 10 et Tn 1721) codent pour des protéines (protéines Tet) qui exportent les tétracyclines à travers la membrane cytoplasmique. Selon les protéines Tet synthétisées, la résistance concerne toutes les tétracyclines sauf la minocycline ou toutes les tétracyclines y compris la minocycline [33].

2.6.6.2 Modification de la cible d'antibiotique

➤ **Modification d'affinité des PLP:** Les PLP ou protéines liant la pénicilline sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse des peptidoglycanes et qui sont les cibles des bêta-lactamines. Cette modification est rencontrée plus chez les bactéries Gram positif que chez les bactéries Gram négatif.

La modification d'affinité des PLP résulte de trois mécanismes :

- Diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines (*Clostridium perfringens*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*).
- Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines. Cette situation est bien connue chez les *Enterococcus* spp où des souches résistent par augmentation de synthèse de la PLP.
- Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) et liée à l'acquisition de nouveaux gènes.

Le meilleur exemple est le cas des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la métiline, l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène (*mecA*), d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP (la PLP 2a). La PLP 2a est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines.

➤ **Modification de la cible des glycopeptides :** La cible d'action des peptidoglycanes est constituée de dipeptide D-ala-D-ala. Une modification de ce dipeptide qui a été mise en évidence chez les entérocoques résistants grâce à un mécanisme qui est l'un des plus complexes connus en matière de résistance aux antibiotiques. Deux types de résistance acquise ont été décrits chez les entérocoques, l'un concerne la vancomycine et la teicoplanine, l'autre ne concerne que la vancomycine. Ces deux types de résistance sont inducibles par les glycopeptides et la résistance n'apparaît donc qu'en présence de ces antibiotiques. Les gènes responsables de cette résistance sont présents sur des transposons (notamment Tn 1546) hébergés soit sur un plasmide autotransférable soit sur le chromosome. Cette résistance se manifeste par le remplacement de l'extrémité D-ala-D-ala par un motif sans affinité pour les glycopeptides.

➤ **Modification de la cible des quinolones:** des mutations dans le gène *gyr A* entraîne des modifications dans la sous unité A d'ADN gyrase et diminuer l'affinité des quinolones pour leur cible ce qui provoque une résistance croisée, à des degrés divers, pour l'ensemble des quinolones. Des mutations dans le gène *gyrB* (codant pour la sous-unité B

de l'ADN gyrase) peuvent modifier les acides aminés 426 ou 447 chez *Escherichiacoli* ou les acides aminés 437 ou 458 chez *Staphylococcus aureus* (ces acides aminés déterminent le Quinolone Resistance-Determining Région (QRDR) de la sous-unité B). L'association d'une mutation dans le gène *gyrA* et dans le gène *gyrB* a été observée chez une souche de *Staphylococcus aureus*. Des mutations du gène *parC*, codant pour les sous-unités ParC de la topo-isomérase IV (deuxième cible des quinolones), provoquent également un phéno-type de résistance aux quinolones.

- **Modifications des cibles du sulfamide et de triméthoprime:** La substitution de cible est un des mécanismes de résistance observés avec les sulfamides et le triméthoprime. Il résulte de l'acquisition de plasmides codant pour une dihydroptéroate synthétase ou une dihydrofolate réductase, ayant un rôle physiologique identique à celui des enzymes codées par le chromosome mais insensibles à l'agent antibactérien. Ces bactéries produisent donc des enzymes chromosomiques sensibles et des enzymes plasmidiques résistantes. Une modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase ou de la dihydrofolate réductase confère, respectivement, une résistance aux sulfamides ou au triméthoprime.
- **Modification des ribosomes:** Des substitutions d'acides aminés dans la protéine S12 de la sous-unité 30 S du ribosome provoquent une résistance à la streptomycine. Ces mutations ont été caractérisées chez *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*.
L'acquisition aussi d'un plasmide portant les gènes *erm* (erythromycin ribosome methylation) conduit à la synthèse d'une méthylase qui méthyle l'ARNr 23S et empêche la fixation des macrolides, des lincosamides et des streptogramines de type B (résistance MLSB). La synthèse de cette méthylase peut être constitutive ou inductible. Lorsqu'elle est constitutive, on note d'emblée une résistance à l'ensemble des MLS. Lorsqu'elle est inductible, sa synthèse est déclenchée par l'érythromycine et l'oléandomycine.
- **Modification de l'ARN polymérase:** La résistance à la rifampicine, observée chez *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* et chez les *staphylocoques*, est liée à la mutation du gène *rpoβ* qui code pour la sous-unité β de l'ARN polymérase [36].

2.6.6.3 Les enzymes inactivant les antibiotiques :

- **Les bêta-lactamases :** Les premiers bêta-lactamases ont été découverte en 1940 chez *Escherichia coli*.
Après de nouvelles enzymes sont mises en évidence: pénicillinase, céphalosporinase, pénicillinase à large spectre, et bêta-lactamase à spectre élargi. Ces enzymes sont capables

de cliver le cycle bêta-lactame et sont les principales responsables de la résistance aux bêta-lactamines.

- **Les enzymes inactivant les aminosides:** L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de résistance le plus souvent observé. Il permet d'expliquer la résistance de plus de 95 % des souches d'entérobactéries résistantes aux aminosides, de 95 % des souches d'*Acinetobacter spp.* De 95 % des souches de bactéries à Gram positif et de 50 % des souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Tous les aminosides possèdent des groupements aminés et des groupements hydroxyles nécessaires à leur activité et ces groupements peuvent être la cible de trois classes d'enzymes:
 - Les acétyltransférases catalysent l'acétylation des groupements aminés.
 - Les nucléotidyltransférases ou O-adénylyl (ANT ou AAD) agissent par adénylation des groupements hydroxyles.
 - Les phosphotransférases transfèrent un groupement phosphate sur les groupements hydroxyles.
- **Les enzymes inactivant les phénicolés :** L'inactivation enzymatique est également le mécanisme de résistance le plus fréquent pour le chloramphénicol et le thiamphénicol. Elle consiste en l'acétylation par un chloramphénicol acétyltransférase du groupement hydroxyle de la molécule. On a identifié 3 enzymes chez les bactéries à Gram négatif et cinq chez les bactéries à Gram positif. A l'exception de *Streptococcus pneumoniae*, ces enzymes sont codées par des plasmides.
- **Autre antibiotique :** Des mécanismes d'inactivation enzymatique ont été observés pour les tétracyclines, les macrolides et les lincosamides mais ils ne constituent pas le mécanisme principal de résistance [37].

2.6.7 Un nouveau mécanisme de résistance d'origine inconnu

En 1998, au nord-américain un nouveau mécanisme de résistance aux quinolones fut décrit dans une souche de *Klebsiella pneumoniae*. Ce déterminant de résistance est une protéine qui s'intercale entre les topo-isomérases de type II et les quinolones et fluoroquinolones bloquant ainsi tout ou une partie de leur activité antibiotique. Cette résistance est plasmidique c'est-à-dire transférable d'une souche d'entérobactérie à une autre. Après avoir été identifié aux Etats-Unis, ce mécanisme de résistance fut trouvé dans de nombreuses autres souches nord-américaines, quelques souches d'*Escherichia coli* de chine, une souche de *Providencia stuartii* d'Egypte et très récemment dans des souches d'*Escherichia coli* de Corée du sud [38, 40].

2.6.8 Facteurs de risque de l'antibiorésistance :

Les causes de la résistance bactérienne sont multiples, et l'équation la plus simple consiste à relier la résistance bactérienne à la consommation d'antibiotiques, mais la complexité du phénomène laisse encore de grands volets à découvrir [31], on peut dire qu'il y a des facteurs extrahospitaliers et des facteurs hospitaliers.

2.6.8.1 Les facteurs extrahospitaliers:

➤ L'usage excessif des antibiotiques:

Les antibiotiques ont représenté la révolution médicale du 20^{ème} siècle et ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses. Cependant, leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale a généré une pression sur les bactéries, qui ont développé des systèmes de défense contre ces antibiotiques conduisant à l'apparition de résistances. Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues préoccupantes avec le risque d'impasses thérapeutiques [31, 41].

Il y a aussi le problème posé à l'échelle mondiale par l'industrie agro-alimentaire et en médecine vétérinaire qui utilisent les mêmes molécules que le système de santé, ces médicaments sont utilisés de façon systématique comme facteurs de croissance. Cette surconsommation d'antibiotiques dans les élevages est responsable de l'apparition de résistances. Les bactéries multi-résistantes issues des élevages peuvent ainsi se transmettre à l'Homme directement ou via la chaîne alimentaire [42, 43]. Les rejets d'eaux usées provenant des élevages également font en sorte qu'il y aura des résidus d'antibiotiques trouvés dans l'environnement. Il a été également démontré que de faibles concentrations d'antibiotiques dispersées dans la nature favorisent l'apparition de résistance chez plusieurs microbes pathogènes comme *Klebsiella pneumoniae* [31, 43].

➤ Les voyages:

Les voyages favorisent la dissémination des souches résistantes sur le plan mondial [30].

➤ La densité de la population:

Elle semble également jouer un rôle, puisqu'elle permet une dissémination plus rapide d'un clone résistant. Il a été démontré que les enfants, surtout ceux qui fréquentent les garderies, constituent un groupe comprenant une forte proportion de porteurs de *Pneumocoques* résistants à la pénicilline ou de *Streptocoques du groupe A* résistants aux macrolides [44].

2.6.8.2 Les facteurs hospitaliers:

La majorité des cas de résistances aux antibiotiques est retrouvée à l'hôpital, il s'agit d'une véritable niche écologique de la résistance. Le milieu hospitalier constitue un environnement propice au développement et à la dissémination des résistances bactériennes, étant donné le

nombre élevé de patients à risque infectieux, la multitude des procédures invasives, les traitements immunosuppresseurs, l'antibiothérapie à large spectre permettant la sélection des bactéries les plus résistantes et la transmission croisée par le personnel soignant [45].

➤ **La sélection des souches résistantes aux antibiotiques:**

Il a été démontré dans la littérature que le stress provoqué par de faibles concentrations d'antibiotiques entraînait une augmentation du taux de mutation. Les antibiotiques se comportent alors comme des mutagènes aléatoires responsables de la résistance à diverses classes d'antibiotiques. La résistance, soit par mutation soit par acquisition de gène exogène, peut être dramatiquement augmentée par la présence de faibles concentrations d'antibiotiques dans l'environnement des bactéries [46, 47]. L'exposition à une classe des antibiotiques peut favoriser l'acquisition d'une souche résistante à toutes les autres molécules (sélection de co-résistances) [48, 49].

La pression de sélection induite est un facteur de risque majeur mais son impact dépend de son type et de sa durée [50], en général les services ou les hôpitaux qui consomment le plus d'antibiotiques ont la plus forte prévalence de bactéries résistantes [51]. La multi-résistance est plus fréquente chez les souches bactériennes isolées des infections nosocomiales que chez les souches isolées des infections communautaires [52].

➤ **Réservoirs :**

La dissémination des souches résistantes englobe d'une part le problème des «réservoirs» et d'autre part le problème de la transmission des germes. La persistance d'un réservoir environnemental peut être la cause dans la pérennisation d'une épidémie locale [50, 53].

En matière des infections nosocomiales, il est primordial d'identifier les différents réservoirs potentiels des bactéries notamment: les patients, le personnel soignant et les dispositifs médicaux [54]. Une charge de soins élevée en réanimation et le non respect du ratio personnel infirmier -patient augmentent le risque de transmission des germes entre patients, par manu portage essentiellement [54].

➤ **La colonisation :**

Pour plusieurs espèces bactériennes, la colonisation par ces espèces est une étape qui précède le développement de l'infection [55, 56]. Les facteurs de risque de la colonisation sont :

- L'hospitalisation en réanimation
- Le recours aux procédures invasives (intubation trachéale et sondage urinaire notamment) et leurs durées [57, 58]
- Un séjour de longue durée : en impliquant une plus longue exposition au risque d'acquérir une bactérie multi résistante

Ainsi, le dépistage de portage digestif ou nasal des BMR chez les patients à risque, peut jouer un rôle dans la prévention de la dissémination de ces germes multi résistants, et la lutte contre les infections nosocomiales. Il permet d'identifier les patients particulièrement à risque d'acquérir une infection nosocomiale, et d'identifier les patients susceptibles d'héberger des bactéries multi résistantes pour assurer un isolement technique et géographique de ces patients notamment en milieux à risque [59, 60].

3. Méthodologie

3.1 Lieu d'étude :

Notre étude à été réalisée au laboratoire de bactériologie de l'Institut National de Santé Publique (INSP), ancien INRSP.

Situation géographique de l'INSP :

Cet Institut situé à l'hippodrome est un établissement public à caractère scientifique et technologique, créé par la loi N°2019-023/AN du 3 juillet portant ratification de l'ordonnance N°2019-011/P-RM du 27 mars, portant création de l'Institut National de Santé Publique (INSP).

Cette structure a été constituée par la fusion de trois entités distinctes qui sont :

- L'Institut National de Biologie Humaine et le Laboratoire Central de Biologie depuis 1981.
- L'Institut National de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle à partir de 1986. En 2006, l'Institut est passé du statut d'Etablissement Public à Caractère Administratif (EPA) à celui d'Etablissement Public à Caractère Scientifique et Technologique (EPST) par l'ordonnance N°06-007/P-RM du 28 février 2006.

Les missions de l'INSP :

Les missions de l'INSP se résument comme suit :

- Promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique notamment dans les domaines des maladies infectieuses, néoplasiques et sociales de la santé familiale, de l'éducation sanitaire, de l'hygiène du milieu, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, toxicologie médicale et expérimentale, de la bromatologie de la génétique, de la socio-économie, de la médecine et pharmacopée traditionnelle ;
- Participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence ;
- Assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique ;
- Assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés;
- Promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et des accords d'assistance mutuelle ;
- Gérer les structures de recherche qui lui sont confiées.

L'INSP est structuré en cinq départements et une agence comptable qui sont:

- Le Département Administratif et du personnel;
- Le Département Santé Communautaire ;
- Le Département Diagnostic et Recherche Biomédicale ;
- Le Département Médecine Traditionnelle ;
- Le Département formation ;

Les locaux du service de bactériologie se composent comme suit :

- Un bureau pour le chef de service ;
- Une salle comprenant les paillasse des prélèvements vaginaux, des pus et divers produits pathologiques ;
- Une petite salle réservée à l'examen cyto bactériologique des urines ;
- Une salle pour la coproculture, l'hémoculture et la recherche de bactéries dans les LCS;
- Une salle pour la recherche de bacilles de Koch dans les crachats et autres produits pathologiques ;
- Une salle de préparation, de stérilisation et de conservation des milieux de culture ;
- Une laverie pour la stérilisation du matériel et la destruction du matériel usagé.

Le laboratoire de bactériologie réalise les activités suivantes :

- L'examen cyto bactériologique des urines;
- L'examen cyto bactériologique des prélèvements génitaux;
- L'examen cyto bactériologique des pus de diverses origines;
- L'examen cyto bactériologique des liquides de ponction (LCR et autres liquides biologiques), des prélèvements de gorge, de nez et de la bouche, des spermatozoïdes, des liquides prostatiques, des prélèvements urétraux et de crachats;
- Recherche de BK dans les crachats et autres produits pathologiques. Les étudiants et les élèves techniciens de laboratoire sont formés au cours de leur stage pratique.

3.2 Type d'étude et période d'étude :

Notre travail est une étude rétro-prospective réalisée sur une période de 3 ans (de 2016 à 2018), à partir des données recueillies des registres du laboratoire.

3.3 Echantillonnage :

3.1 Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans notre étude les résultats de l'examen cyto bactériologique de pus et d'expectoration des années de 2016 à 2018 dans le service de bactériologie de l'INSP quelles que soient la provenance.

3.3.2 Critères de non-inclusion :

N'ont pas été inclus dans notre étude tous les échantillons autres que ceux des pus et expectorations précédant les années de 2016 à 2018.

3.4 Collecte de donnée :

Les données ont été recueillies à partir des registres des examens bactériologique de l'INSP de 2016 à 2018.

3.5 Matériels et Méthodes :

3.5.1 Matériels

3.5.1.1 Matériels de prélèvement :

- Ecouvillon et seringue stérile pour prélèvement de pus ;
- Crachoir stérile pour prélèvement de crachat.

3.5.1.2 Matériels biologiques :

- Pus
- Expectoration

3.5.1.3 Matériels d'analyses :

3.5.1.3.1 Matériels pour examen microscopique

- Lame
- les colorants pour la technique de Gram
- Papier buvard
- Microscope
- Huile à immersion.
- Disques d'antibiotiques
- Eau physiologique stérile.
- Huile de paraffine.
- Tube à hémolyse stérile.
- Anses métalliques, Anses plastiques.
- Pipettes Pasteur, Pipettes de transfert.

- Bec Bunsen.
- Pinces.
- Gants propres.
- Règle graduée et marqueur.
- Etuve.

3.5.1.4 Milieux de culture

a. Milieux sélectifs :

- **Gélose lactose de Drygalski :**

Ce milieu permet la croissance de toutes les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non exigeants.

Le développement des bactéries à Gram positif est inhibé par le cristal violet (violet de gentiane). Il permet de séparer les bacilles à Gram négatif fermentant le lactose de celles ne le fermentant pas.

Les bactéries fermentant le lactose (*E. coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*,) cultivent en donnant des colonies jaunes.

Les bactéries ne fermentant pas cet ose, cultivent en donnant des colonies bleu-verdâtres ou bleu (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*,).

- **Milieu de Chapman :** pH 7.4, boîte de 500g, code 5 106 3. bio Mérieux.

C'est un milieu sélectif pour l'isolement des *staphylocoques*. Sa teneur élevée en chlorure de sodium (75g/l permet une inhibition de la plupart des autres germes).

Utilisation : Le pouvoir inhibiteur du chlorure de sodium permet d'ensemencer abondamment les boîtes de pétri qui sont incubées pendant 18 à 24 heures à l'étuve à 37°C. La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage au jaune du rouge de phénol (indicateur coloré).

Lecture : Les colonies de *Staphylococcus aureus* fermentant le mannitol sont entourées d'une zone jaune et sont de taille importante.

Remarque : La fermentation du mannitol est un test d'orientation qui devra toujours au minimum être complété par un examen microscopique (Cocci disposés en grappes de raisins) et/ou la recherche de la coagulase.

- **Gélose au sang frais :**

Elle est utilisée pour la culture des germes exigeants et pour l'étude de l'hémolyse des bactéries hémolytiques, principalement des streptocoques.

- b. Milieux spécifiques :**

- **Gélose Mueller Hinton :**

C'est un milieu solide utilisé pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques par la méthode de diffusion. Il constitue un excellent milieu de base pour la préparation de la gélose au sang.

- c. Milieux pour l'étude des caractères biochimiques :**

Ils sont utilisés pour l'identification des entérobactéries, de *Pseudomonas* et d'*Acinetobacter*. Ce sont la galerie minimum classique de l'Institut Pasteur et la galerie API 20 E.

- **Galerie classique :**

Elle utilise sept (7) caractères pour l'identification des entérobactéries.

Elle est la plus utilisée chez nous et comporte quatre (4) milieux qui sont:

- **Hajna-Kligler (lactose-glucose-H₂S) :**

Il permet de mettre en évidence la fermentation du lactose ou du glucose (avec ou sans dégagement gazeux).

Le glucose constitue le culot et le lactose la pente.

La fermentation du glucose et du lactose provoque l'acidification du milieu ce qui entraîne le virage de l'indicateur coloré le rouge de phénol, du rouge au jaune. La production H₂S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente.

- **Milieu mannitol-mobilité-nitrate :**

Il est utilisé pour la différenciation rapide des entérobactéries.

Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol et la réduction des nitrates en nitrites.

Les bacilles mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu.

Les bacilles immobiles cultivent uniquement le long de la piqûre d'ensemencement.

Si le mannitol est fermenté, le milieu vire au jaune.

En rajoutant à la surface du tube, du réactif de Griess (acide sulfanilique- α naphtylamine), on peut mettre en évidence le nitrite, si la bactérie en étude possède une nitratase.

➤ **Milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons) :**

Il permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone. Une réaction positive traduit le virage du milieu au bleu.

➤ **Milieu urée-indole :**

Ce milieu synthétique permet de rechercher simultanément l'uréase, le tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole.

Si le germe possède une uréase, le milieu devient alcalin par formation de carbonate d'ammonium et vire au rouge violacé en 2 ou 4 heures (*Proteus, Yersinia*) ou en 12 à 18 heures (*Klebsiella et Citrobacter*).

L'indole est recherché après 24 heures d'incubation de préférence avec le réactif de Kovac. L'apparition d'un anneau rose à la partie supérieure du milieu traduit la présence d'indole.

• **Galerie API 20 E**

API 20 E est une galerie d'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif. Elle comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes 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.

Les substrats déshydratés sont : 2-nitrophényl- β -galactopyranoside, L-arginine, L-lysine, L-ornithine, trisodium citrate, sodium thiosulfate, urée, L-tryptophane, sodium pyruvate, gélatine, D-glucose, D-mannitol, inositol, D-sorbitol, L-rhamnose, D-saccharose, D-melibiose, amygdaline, L-arabinose.

3.5.1.5 Réactifs pour l'étude des caractères biochimiques et sérologiques

Divers réactifs sont utilisés:

réactifs d'ONPG ; d'oxydase ; staph-aureus Kit ; réactifs de kovacs pour la révélation de l'indole ; réactif TDA ; réactifs VP1 et VP2 ; réactifs Nit1 et Nit2.

3.5.1.6 Coloration de Gram :

➤ **Principe :**

La coloration de Gram est la coloration la plus importante dans le laboratoire de microbiologie. Les bactéries peuvent être divisées en microorganismes Gram positif et en microorganismes Gram négatif. Les bactéries Gram positif retiennent la coloration violette du Violet de Gentiane (ou du Cristal Violet) et auront une teinte bleue au microscope. Les bactéries Gram négatif sont décolorées, leur enlevant ainsi la coloration violette du Violet de Gentiane

avec une solution d'alcool acétone. Les bactéries sont ensuite colorées en rouge avec la safranine (ou la fuchsine basique)

➤ **Interprétation :**

Après séchage, la lame est observée au microscope optique avec l'objectif 100 en immersion.

➤ **Mode d'opération :**

- Fixer le frottis à la flamme ou à l'alcool, sécher soigneusement puis refroidir la lame
- Recouvrir le frottis fixé de violet de gentiane
- Laisser agir 1 minute
- Laver à l'eau
- Recouvrir l'étalement de lugol Laisser agir 1 minute
- Laver à l'eau
- Décolorer à l'alcool-acétone, en le versant goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration et arrêter lorsque la solution de décoloration devient incolore.
- Laver à l'eau pour éliminer l'excès d'alcool
- Recouvrir l'étalement par une solution de Fuchsine
- Laisser agir 30 secondes
- Laver à l'eau
- Laisser sécher la préparation
- Examiner au microscope à l'objectif X 100 sous huile à immersion.

3.5.2 Méthodes :

3.5.2.1 Prélèvement de pus :

Les prélèvements des pus sont effectués le matin après désinfection des pourtours pour une plaie à l'aide d'un écouvillon ou à l'aide d'une seringue pour prélever ou aspirer une collection de pus après désinfection de la partie externe.

3.5.2.2 Prélèvement d'expectoration :

Les expectorations sont des sécrétions qui viennent des poumons. Elles sont produites à l'occasion d'une toux profonde venant de la poitrine. L'expectoration n'est pas la salive ou un crachat provenant de la bouche. Le prélèvement de l'expectoration doit être effectué le matin, au réveil, après rinçage bucco-dentaire (afin de diminuer la contamination du prélèvement par la flore bactérienne de la cavité buccale) à l'eau, le patient tousse et produit des expectorations qui sont recueillis dans un pot stérile.

3.5.2.3 Résultats de l'examen microscopique :

L'observation a permis de noter la morphologie des bactéries et la présence ou l'absence des polynucléaires altérés.

Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

Les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose.

3.5.2.4 Culture : Elle a consisté à l'ensemencement des produits pathologiques sur des milieux de culture par la méthode de stries. Elle se fait toujours près de la flamme d'un Bec Bunsen et les boîtes à couvercles renversés, ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

3.5.2.5 Identification des bactéries :

Elle est basée sur des caractères morphologiques, cultureux et biochimiques.

3.5.2.5.1 Caractères morphologiques :

La morphologie des germes isolés a été étudiée sur un frottis coloré au Gram.

3.5.2.5.2 Caractères cultureux :

L'étude des caractères cultureux a porté sur l'aspect et la couleur des colonies.

3.5.2.5.3 Caractères biochimiques :

➤ Les cocci à Gram positif :

➤ Identification des souches de *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus a été identifié grâce à son caractère « mannitol positif » qui lui permet de faire virer le Chapman et la mise en évidence de catalase et la coagulase.

Un test rapide d'agglutination avec le réactif SlidexStaph Plus a été aussi utilisé pour l'identification des souches de *Staphylococcus aureus*.

Recherche de la catalase :

La catalase est détectée après le dégagement de bulles d'oxygène du dépôt d'une goutte d'ID color catalase sur une colonie de *Staphylococcus aureus*.

➤ Identification des *Streptocoques* :

L'étude de l'hémolyse et la mise en évidence d'une catalase négative, ont permis l'identification des *Streptocoques*.

➤ Les bacilles à Gram négatif :

Les germes sont identifiés après ensemencement sur la galerie API 20 E ou sur les milieux de la galerie classique. *Pseudomonas aeruginosa* est identifié par sa capacité à faire virer la gélose ordinaire au vert par la production de pyoverdine. Les entérobactéries sont identifiées par la galerie API 20 E. Après inoculation de la suspension bactérienne dans la galerie, la lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C à l'étuve. Les germes sont identifiés à partir

du tableau d'identification accompagnant chaque système API ou du catalogue analytique ou encore du logiciel d'identification.

L'identification des *Salmonella-Shigella* est confirmée par des tests sérologiques.

➤ **Mode opératoire de la galerie classique**

- Urée-indole : il est abondamment ensemencé à partir d'une colonie entière prélevée sur un milieu d'isolement. La suspension obtenue permet d'ensemencer les autres milieux.
- Mannitol-mobilité : il est ensemencé par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu à l'aide d'une anse.
- Citrate de sodium : il est ensemencé par stries sur la pente à l'aide d'une anse.
- Hajna-kligler : ce milieu est d'abord ensemencé par stries sur la pente, puis par piqûre profonde dans le culot. Les milieux sont incubés à 37°C dans l'étuve pour 24 heures. Les réactions produites pendant la période d'incubation et l'addition de réactifs permettent d'identifier les germes.

Interprétation de pente :

- Dans un premier temps, les bactéries utilisent le glucose comme source de carbone et d'énergie (à cause de l'effet glucose). Cette utilisation s'accompagne de la production d'acides organiques d'où le virage du rouge au jaune du milieu.
- Dans un second temps, du fait du développement rapide (en aérobiose) et de la faible concentration en glucose en moins de 24 heures, la totalité du glucose est dégradé, il y a disparition de l'effet glucose. Puis, deux possibilités :
 - Si la bactérie est β -galactoside perméase + et β -galactosidase + : les bactéries utilisent le lactose avec production d'acides organiques : le virage au jaune est confirmé.
 - Si la bactérie est β -galactoside perméase + et β -galactosidase - ou β -galactoside perméase - et β -galactosidase - : les bactéries ne peuvent pas utiliser le lactose. Les bactéries utilisent alors comme source de carbone et d'énergie les peptones (qui ne sont dégradables qu'en conditions aérobies) : le métabolisme protidique libère des produits basiques (ammoniac, amines...) d'où une recoloration au rouge de la pente.

Ainsi :

- Pente rouge : bactérie lactose –
- Pente jaune : bactérie lactose +

Interprétation du culot :

- Dans un premier temps, les bactéries fermentent le glucose avec production importante d'acides organiques (à cause de l'effet glucose).

- Comme sur la pente, en moins de 24 heures, tout le glucose est fermenté. Cependant, si les bactéries sont lactose -, l'utilisation des peptones avec une alcalinisation ne permet pas le révirage de l'indicateur de pH, le culot restera jaune en 24 h.
- Si la bactérie n'est pas capable de fermenter le glucose, il n'y a pas production d'acides organiques, le culot reste rouge.

Ainsi :

- Culot rouge : bactérie glucose -;
- Culot jaune : bactérie glucose +.

Production de gaz :

La production de gaz lors de l'utilisation des glucides est mise en évidence par le décollement de la gélose et/ou des bulles dans la gélose. S'il n'y a pas ces témoins de dégagement gazeux, la bactérie est gaz-

Production de sulfure d'hydrogène

Elle a lieu à partir de l'ion thiosulfate :

Le sulfure d'hydrogène réagit avec les ions fer III (Fe^{3+}) du citrate de fer pour former un précipité de sulfure de fer noir.

Ainsi :

- Batteries H_2S +: précipité noir;
- Bactéries H_2S -: pas de précipité noir

➤ **Mode opératoire de la galerie API 20 E :**

- Réunir fond et couvercle de la boîte d'incubation.
- Incrire les références de l'échantillon sur la languette latérale de la boîte.
- Humidifier les alvéoles avec l'eau pour créer une atmosphère humide.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.
- A l'aide d'une anse, prélever une seule colonie bien isolée.
- Réaliser une suspension bactérienne dans 5ml d'eau physiologique.
- Bien homogénéiser la suspension.
- A l'aide d'une pipette de transfert ou pipette Pasteur, remplir tubes et cupules avec la suspension bactérienne.
- Pour les tests (CIT, GEL, VP), remplir tubes et cupules avec la suspension bactérienne.
- Pour les tests (ADH, LDC, ODC, H_2S , Urée), créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.

- Fermer la boîte d'incubation et placer la dans l'étuve à 35-37°C pendant 18-24 heures.
- La lecture de la galerie se fait avec le tableau API 20 E après la réalisation du test d'oxydase et l'addition des réactifs (réactif TDA, réactif de Kovacs, réactifs VP1 et VP2).
- **Mode opératoire du teste d'oxydase**
 - Déposer une colonie isolée sur un papier buvard.
 - Mettre une goutte du réactif sur la colonie. L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif. Ne pas lire le test après 30 secondes à cause des faux-positifs qui peuvent se développer.
- **Mode opératoire du teste TDA**
 - Ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Mode opératoire du teste IND**
 - Ajouter une goutte de réactif Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Mode opératoire du teste VP**
 - Ajouter une goutte des réactifs VP1 et VP2 et attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

3.5.2.6 Antibiogramme

Pour étudier la sensibilité des différentes souches bactériennes isolées aux antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques d'antibiotique in vitro selon Kirby-Bauer.

La méthode de diffusion des disques selon Kirby-Bauer est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme.

En standardisant les conditions du test (préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial, atmosphère et durée d'incubation) et concentration du micro-organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique (plus la zone est grande, plus la bactérie est sensible).

Nos antibiogrammes ont été réalisés sur la gélose Mueller Hinton.

3.5.2.6.1 Préparation de l'inoculum

Elle consiste à préparer une suspension bactérienne à partir d'une colonie d'une culture pure de 18 à 24 heures, dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique 0,9%. La suspension obtenue est ensuite comparée à l'étalon de turbidité 0,5Mac Farland.

3.5.2.6.2 Ensemencement

Les milieux pour l'antibiogramme sont préalablement séchés à l'étuve pendant 30 minutes à 37°C avant leur emploi. Ils sont ensuiteensemencés par inondation ou à l'aide d'un écouvillon.

- **Inondation :**

Les milieux sont inondés avec la suspension bactérienne, puis l'excès de l'inoculum est versé dans un récipient à côté de la flamme d'un Bec Bunsen.

- **Ecouvillonnage :**

L'écouvillon est trempé dans l'inoculum contenu dans un tube. L'excès de l'inoculum est éliminé en pressant l'écouvillon et en le faisant rouler contre les parois du tube.

Toute la surface du milieu est ensuiteensemencée par stries à trois reprises en faisant tourner à chaque fois la boîte de 60° après chaque application.

L'écouvillon est passé ensuite sur le bord de la gélose.

3.5.2.6.3 Application des disques d'antibiotiques et incubation

Le choix des disques d'antibiotiques à testé repose avant tout sur l'identification du germe et sur la connaissance de sa résistance naturelle.

Parmi les antibiotiques susceptibles d'être utilisés en thérapeutique, toutes les molécules ne sont pas prises en compte. En effet, la connaissance des familles d'antibiotiques et des mécanismes de résistance croisée permet de ne faire figurer dans l'antibiogramme qu'un nombre restreint de molécules représentatives.

Les disques d'antibiotiques sont présentés en cartouches unitaires de 50 disques de diamètre égal à 6.35 mm. Le sigle comportant 1 à 3 lettres est imprimé sur chaque disque.

Ils sont imprégnés par des quantités de substances actives bien déterminées, rigoureusement contrôlées et répondant aux normes de l'OMS.

Leur conservation se fait de 2°C à 8°C dans leur étui. Ils doivent être à la température ambiante avant leur emploi. Les disques périmés, ne doivent pas être utilisés.

Ils sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose. Ils sont appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Sept disques sont déposés par boîte de 90 mm de diamètre.

Une distance minimale de 15mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés de 30mm (centre-centre) pour que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas. Après application des disques d'antibiotique, un délai de 15 à 30 minutes à la température ambiante a été observé pour permettre la pré diffusion des antibiotiques.

Les boîtes d'antibiogramme à couvercle renversé sont ensuite mises à l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

3.5.2.6.4 Lecture :

La lecture a consisté à mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée. L'interprétation a été faite en comparant les valeurs mesurées à celles des diamètres critiques données par la Société Française de Microbiologie.

Les phénotypes de résistance ont été identifiés à la lecture interprétative des antibiogrammes en fonction du comportement de nos souches à différents antibiotiques testés.

3.5.2.6.5 Interprétation de l'antibiogramme :

Effectuer un antibiogramme permet de déterminer la sensibilité d'une souche de bactérie vis-à-vis de divers antibiotiques. L'interprétation des résultats est simple ce qui explique son intérêt. Mais souvent la sensibilité d'une souche in vitro ne se retrouve pas toujours chez le patient pour des raisons de diffusion tissulaire, de mauvaise absorption intestinale etc.

- Une souche est dite sensible à un antibiotique si sa croissance peut être réduite par un traitement à base de cet antibiotique
- Une souche est dite intermédiaire à un antibiotique si elle n'est pas atteinte par un traitement standard ; mais si une augmentation de la dose d'antibiotique permet de détruire ce germe
- Une souche est dite résistante à un antibiotique si elle ne peut être atteinte par ce traitement même en augmentant les doses d'antibiotiques.
- La présence d'une image de synergie en bouchon de champagne dans la zone de contact entre l'amoxicilline + acide clavulanique et les céphalosporines ou Azotreonam a été retenu comme signe de production de BLSE.
- Une souche est dite multi résistante aux antibiotiques, lorsqu'elle résiste à plus de 3 différentes familles d'antibiotiques.

3.6 Analyse et saisie des données

Nos données ont été saisies avec Epi info version 3.5.4 et analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS version 20.

4. RESULTATS

4.1 Résultats globaux

Au total, nous avons collecté 445 échantillons dont les prélèvements de pus étaient les plus représentés avec 242 échantillons soit 54,4% et 203 échantillons pour les prélèvements d'expectoration soit 45,6%.

4.2 Origine des échantillons

4.2.1 Origine des échantillons selon l'hospitalisation

Tableau I : Répartition des échantillons selon leur provenance

Lieux de provenance	Effectifs	Pourcentage
Hôpitaux	139	31,2
CS Réf	94	21,1
CSCom	28	6,3
Clinique et Cabinet privé	48	10,8
Non renseigné	136	30,6
Total	445	100

31,2 % de nos échantillons provenaient des hôpitaux suivis des CS Réf soit 21,1%. Mais l'origine n'a pas été précisée dans les registres pour 136 échantillons dont 30,6%.

4.2.2 Origine des échantillons selon le service **Tableau II : Répartition des échantillons selon les services d'hospitalisation**

Service de provenance	Effectifs	Pourcentage
Chirurgie générale	95	21,3
Pneumologie	85	19,1
ORL	67	15,1
Traumatologie	45	10,1
Médecine interne	15	3,4
Pédiatrie	11	2,5
Infectiologie	10	2,2
Gynéco-Obstétrique	9	2
Dermatologie	4	0,9
Diabétologie	4	0,9
Cardiologie	2	0,5
Non renseigné	98	22
Total	445	100

La plupart de nos échantillons provenaient du service de la chirurgie générale soit 21,3% suivi du service de la pneumologie 19,1%. Le service de provenance n'a pas été indiqué pour 98 échantillons qui représentaient 22% de notre échantillonnage.

4.3 Nature des germes

4.3.1 Répartition des germes isolés

Tableau III : Répartition bactérienne en fonction de la morphologie

Bactérie isolées	Nombre	Pourcentage
Bacilles à Gram négatif	346	77,8
Cocci à Gram positif	99	22,2
Total	445	100

L'analyse de ce tableau montre que les bactéries à Gram négatif ont été les plus isolées avec 77,8% de l'ensemble des bactéries isolées.

4.3.2 Répartition des germes selon l'espèce

Tableau IV : Fréquence des souches isolées

Germes isolés		Effectif	Fréquence %
Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	77	17,3
	<i>Streptocoques</i>	22	4,9
Bacille à Gram négatif	<i>Klebsiella sp</i>	92	20,7
	<i>Escherichia coli</i>	65	14,6
	<i>Enterobacter sp</i>	60	13,5
	<i>Pseudomonas sp</i>	55	12,4
	<i>Acinetobacter sp</i>	33	7,4
	<i>Proteus sp</i>	15	3,4
	<i>Citrobacter sp</i>	10	2,2
	<i>Providencia sp</i>	6	1,3
	<i>Morganella morganii</i>	5	1,1
	<i>Serratia sp</i>	4	0,9
	<i>Vibrio metschnikovii</i>	1	0,2
Total		445	100

Les souches de *Klebsiella* étaient les plus fréquentes parmi les espèces bactériennes isolées au cours de notre étude soit 20,7% suivies par les souches de *Staphylococcus aureus* (17,3%).

4.4 Sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques

4.4.1 Sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques

Tableau V: Sensibilité des bacilles à Gram négatif fréquemment isolées aux antibiotiques

Bacille à Gram négatif	<i>Klebsiella spp</i>					<i>Escherichia coli</i>					<i>Enterobacter spp</i>				
	souches testées	souches sensibles	% sensible	souches résistantes	% résistante	souches testées	souches sensibles	% sensible	souches résistantes	% résistante	souches testées	souches sensibles	% sensible	souches résistantes	% résistante
Amoxicilline	0	0	0	0	0	52	3	5,8	49	94,2	0	0	0	0	0
Amoxicilline + Acide clavulanique	45	4	8,9	41	91,1	32	6	18,8	26	81,2	0	0	0	0	0
Ticarcilline	0	0	0	0	0	34	2	5,9	32	94,1	45	17	37,8	28	62,2
Piperacilline	0	0	0	0	0	42	9	21,4	33	78,6	34	26	76,5	8	23,5
Cefalotine	71	38	53,5	33	46,5	43	9	20,9	29	67,4	0	0	0	0	0
Cefoxitine	62	39	62,9	23	37,1	30	16	53,3	14	46,7	0	0	0	0	0
Ceftazidime	75	61	81,3	14	18,7	55	27	49,1	28	50,9	52	33	63,5	19	36,5
Cefotaxime	57	43	75,4	14	24,6	34	14	41,2	20	58,8	52	38	73,1	14	26,9
Imipenème	63	63	100	0	0	48	48	100	0	0	52	52	100	0	0
Gentamicine	59	44	74,6	15	25,4	44	24	54,5	20	45,5	43	34	79,1	9	20,9
Tobramicine	31	24	77,4	7	22,6	30	20	66,7	10	33,3	21	16	76,2	5	23,8
Amikacine	48	41	85,4	7	14,6	59	45	76,3	14	23,7	38	28	73,7	10	26,3
Acide nalidixique	15	5	33,3	10	66,7	9	3	33,3	6	66,7	1	1	100	0	0
Ciprofloxacine	24	11	45,8	13	54,2	35	12	34,3	23	65,7	13	11	84,6	2	15,4
Chloramphénicol	14	9	64,3	5	35,7	22	16	72,7	6	27,3	7	4	57,1	3	42,9
Sulfamide + Triméthoprime	56	36	64,3	20	35,7	30	3	10	27	90	43	36	83,7	7	16,3
Colistine	48	48	100	0	0	45	45	100	0	0	33	33	100	0	0

Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de *Klebsiella*, d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter* ont été la colistine, l'imipénème, les aminosides (amikacine, gentamicine et tobramicine), et les céphalosporines de 3^{ème} génération (céftazidime et céfotaxime). Nos souches d'*Enterobacter* ont été plus actives sur la ciprofloxacine, le sulfamide + triméthoprime, la piperacilline et les céphalosporines de 2^{ème} génération.

Tableau VI : Sensibilité des autres bacilles à Gram négatif aux antibiotiques

Bacilles à Gram négatif	<i>Pseudomonas</i>		<i>Acinetobacter</i>		<i>Proteus</i> <i>sp</i>		<i>Citrobacter</i> <i>sp</i>		<i>Providencia</i> <i>sp</i>		<i>Morganella</i> <i>morganii</i>		<i>Serratia</i> <i>sp</i>		<i>Vibrio met-</i> <i>schnikovii</i>	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Amoxicilline	0	0	0	0	0	9	0	10	0	6	0	5	0	3	0	1
Amoxicilline + Acide clavulanique	0	0	0	0	0	7	1	9	0	4	0	4	0	1	0	1
Ticarcilline	6	15	3	16	4	7	0	6	4	2	0	4	1	2	0	1
Piperacilline	31	9	10	15	4	1	0	3	2	1	2	1	2	1	1	0
Cefalotine	0	0	0	0	0	8	0	6	0	4	0	4	0	4	0	1
Cefoxitine	0	0	0	0	4	7	3	5	2	2	0	4	0	2	0	1
Ceftazidime	20	6	16	5	9	1	6	4	2	0	2	2	3	1	1	0
Cefotaxime	0	0	0	0	9	2	6	4	3	1	3	2	3	1	1	0
Imipenème	14	0	28	1	12	0	8	0	4	0	3	1	2	0	1	0
Gentamicine	0	0	0	0	7	6	7	3	0	3	1	4	2	2	1	0
Tobramicine	0	0	0	0	7	4	4	2	0	6	1	2	0	2	1	0
Amikacine	0	0	0	0	14	0	2	4	5	1	3	0	3	0	1	0
Acide nalidixique	0	16	0	5	5	1	0	2	0	1	1	0	0	1	0	1
Ciprofloxacine	24	7	13	3	5	2	5	2	0	1	1	1	1	1	0	1
Chloramphénicol	0	0	0	0	0	4	3	4	1	0	1	1	1	2	0	1
Sulfamide + Triméthoprim	4	25	4	17	4	3	2	5	0	4	0	2	2	1	0	1
Colistine	34	0	22	0	0	8	9	0	0	1	0	5	0	3	1	0

4.4.2 Sensibilité des Cocci à gram positif aux antibiotiques

Tableau VII : Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

ANTIBIOTIQUES	souche testée	souche sensible	% sensible	souche résistante	% résistante
Pénicilline G	73	9	12,3	64	87,7
Oxacilline	69	54	78,3	15	21,7
Gentamicine	48	41	85,4	7	14,6
Tobramicine	8	7	87,5	1	12,5
Amikacine	23	20	87	3	13
Chloramphénicol	28	22	78,6	6	21,4
Doxycycline	25	11	44	14	56
Minocycline	19	13	68,4	6	31,6
Pristinamycine	49	47	95,9	2	4,1
Lincomycine	66	53	80,3	13	19,7
Erythromycine	64	50	78,1	14	21,9
Sulfamide + Triméthoprime	42	31	73,8	11	26,2
Ciprofloxacin	27	18	66,7	9	33,3

Nos souches de *Staphylococcus aureus* ont été sensibles aux macrolides (pristinamycine, l'érythromycine), aux aminosides (tobramicine, amikacine, gentamicine), au chloramphénicol, à l'oxacilline et au sulfamide + triméthoprime.

Tableau VIII : Sensibilité des souches de *Streptocoques* aux antibiotiques

ANTIBIOTIQUES	Nombre de souche testé	Nombre de souche sensible	% de souche sensible	Nombre de souche résistante	% de souche résistante
Pénicilline G	19	1	5,3	18	94,7
Oxacilline	19	4	21,1	15	78,9
Chloramphénicol	4	4	100	0	0
Doxycycline	13	2	15,4	11	84,6
Minocycline	6	0	0	6	100
Pristinamycine	16	12	75	4	25
Lincomycine	20	8	40	12	60
Erythromycine	15	4	26,7	11	73,3
Sulfamide + Triméthopriime	15	1	6,7	14	93,3
Ciprofloxacine	3	1	33,3	2	66,7

Les souches de Streptocoques ont été plus sensibles à la pristinamycine et au chloramphénicol.

Les principales souches des Streptocoques concernées sont : *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogene*, *Streptococcus du groupe B*.

4.5 Phénotypes de résistance des bactéries aux antibiotiques

4.5.1 Phénotypes de résistance des bacilles à gram négatif aux antibiotiques

Tableau IX : Phénotype de résistance des souches de *Klebsiella spp* aux bêta-lactamines

Phénotype (n=92)	Nombre de souche	Pourcentage
PS = PBN	4	4,3
PHN	9	9,8
BLSE	11	12

PS : Phénotype sauvage ; **PBN** : Phénotype de bas niveau ; **PHN** : Phénotype de haut niveau ; **BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargie. Nous avons trouvé 12% de souche de *Klebsiella* productrice de bêta-lactamase à spectre élargie, suivi par le phénotype PHN dont 9,8%.

Tableau X : Phénotype de résistance des souches de *Klebsiella spp* aux aminosides

Phénotype (n=92)	Fréquence	Pourcentage
G	11	12
A	4	4,3
GT	5	5,4
TA	3	3,3

G : Gentamicine ; **A** : Amikacine ; **GT** : Gentamicine, Tobramicine ; **TA** : Tobramicine, Amikacine.

Le phénotype (Gentamicine) était le plus exprimé avec 12%.

Tableau XI : Phénotype de résistance des souches de *Klebsiella spp* aux quinolones

Phénotype (n=92)	Fréquence	Pourcentage
I = Sauvage	5	5,4
II	10	10,9
III	-	-
IV	9	9,8

Le phénotype (II) était le plus représenté suivi par le phénotype (IV), par contre nous n'avons pas constaté de résistance au phénotype (III).

Tableau XII : Phénotype de résistance des souches d'*Escherichia coli* aux bêta-lactamines

Phénotype (n=65)	Nombre de souche	Pourcentage
PS	3	4,6
PBN	5	7,7
PHN	3	4,6
BLSE	15	23,1

PS : Phénotype sauvage ; **PBN** : Phénotype de bas niveau ; **PHN** : Phénotype de haut niveau ; **BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargie.

Chez les souches d'*Escherichia coli*, les bêta-lactamases à spectre élargie ont été prédominant avec 23,1% suivi le par le phénotype PBN dont 7,7%.

Tableau XIII : Phénotype de résistance des souches d'*Escherichia coli* aux aminosides

Phénotype (n=65)	Fréquence	Pourcentage
G	13	20
A	11	16,9
GT	9	13,8
TA	8	12,3

G : Gentamicine ; **A** : Amikacine ; **GT** : Gentamicine, Tobramicine ; **TA** : Tobramicine, Amikacine.

Le phénotype (Gentamicine) était le plus fréquent, suivi par le phénotype (Amikacine).

Tableau XIV : Phénotype de résistance des souches d'*Escherichia coli* aux quinolones

Phénotype (n=65)	Fréquence	Pourcentage
I = Sauvage	3	4,6
II	6	9,2
III	-	-
IV	6	9,2

Les phénotypes II et IV ont exprimés les mêmes niveaux de résistance, par contre nous n'avons observé de résistance au phénotype III.

Tableau XV: Phénotype de résistance des souches d'*Enterobacter* aux bêta-lactamines

Phénotype (n=60)	Nombre de souche	Pourcentage
PS = CI	13	21,7
PHN	10	16,7
BLSE	15	25

PS : Phénotype sauvage ; **CI** : Case inductible ; **PHN** : Phénotype de haut niveau ; **BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargie.

Les BLSE ont été prédominant avec 25% chez les *Enterobacter*, suivi par le phénotype sauvage avec 21,7%.

Tableau XVI : Phénotype de résistance des souches d'*Enterobacter* aux aminosides

Phénotype (n=60)	Fréquence	Pourcentage
G	9	15
A	8	13,3
GT	4	6,7
TA	5	8,3

G : Gentamicine ; **A** : Amikacine ; **GT** : Gentamicine, Tobramicine ; **TA** : Tobramicine, Amikacine.

Parmi les souches des *Enterobacter*, le phénotype (Gentamicine) était le plus exprimé

4.5.2 Phénotype de résistance des bactéries à Gram positif aux antibiotiques

Tableau XVII : Phénotype de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Phénotype (n=77)	Nombre de souche	Pourcentage
Péni-S / Oxa-S	7	9,1
Péni-R / Oxa-S	37	48,1
Péni-R / Oxa-R	14	18,2

Péni-S / Oxa-S: Pénicilline sensible/Oxacilline sensible ; **Péni-R / Oxa-S** : Pénicilline résistant/Oxacilline sensible ; **Péni-R / Oxa-R** : Pénicilline résistant/Oxacilline résistant.

Le phénotype Péni-R/Oxa-S a été le plus représentés, suivi par le phénotypePéni-R / Oxa-R.

Tableau XVIII : Phénotype de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux macrolides

Phénotype (n=77)	Fréquence	Pourcentage
MLSB inductible	7	9,1
MLSB constitutif	7	9,1
L	4	5,2
Erm	6	7,8

MLSB : Macrolide, Lincomycine, Streptogramines de type B ; **L** : Lincomycine ; **Erm** : Erythromycine.

Les phénotypes MLSB (inductible) et MLSB (constitutif) ont exprimé les mêmes niveaux de résistance, suivi par le phénotype Erm.

4.6 Répartition des bactéries multi résistante (BMR)

Tableau XIX : Répartition des bactéries multi résistante (BMR) aux antibiotiques

Espèces isolées	Nombre de souche isolée	BMR	
		Nombre	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	77	11	14,3
<i>Streptocoques</i>	22	10	45,5
<i>Escherichia coli</i>	65	8	12,3
<i>Enterobacter</i>	60	8	13,3
<i>Pseudomonas</i>	55	6	10,9
<i>Klebsiella</i>	92	3	3,3
<i>Citrobacter</i>	10	2	20
<i>Proteus</i>	15	1	6,7
<i>Providencia</i>	6	1	16,7
<i>Morganellamorganii</i>	5	1	20
<i>Serratia</i>	4	1	25
<i>Acinetobacter</i>	33	1	3

Parmi les bactéries multi résistants (BMR), les souches des *Streptocoques* étaient les plus fréquentes.

5. Discussion

Notre travail s'est déroulé à l'Institut National de Santé Publique (INSP), c'est une étude rétrospective réalisée sur trois ans (2016-2018), durant laquelle 445 souches bactériennes ont été isolées dont les prélèvements de pus ont été majoritaire avec 52,2% suivi par les expectorations 47,8%.L'étude de la sensibilité a été faite par la méthode de diffusion d'antibiotiques sur gélose de Mueller-Hinton.L'interprétation du test de sensibilité a été faite selon les recommandations de l'antibiogramme de la société française de microbiologie [61].

5.1 Fréquence d'isolement des bactéries

Parmi les bacilles à Gram négatif, nos souches de *Klebsiella* ont été les plus isolées avec 20,2%. Au centre national hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou en 2004, SOUDE a trouvé une prédominance de *Klebsiella* avec un pourcentage de 36,1% [7]. En 2013 en Algérie, RAMOUL a rapporté une prédominance de *Klebsiella* supérieure au nôtre avec 54,76% [62].

Staphylococcus aureus a été plus fréquent dans les cocci à Gram positif isolés dans notre étude avec 17,3% de prédominance. Cette prédominance est inférieure à celles rapportées par KANTE [9] et KEITA [10] à l'INSP, avec respectivement 42,5% et 34,4%.

Ces différentes prédominances pourraient être dues à la méthodologie (type d'étude) utilisée pour chaque étude citée ci-dessus.

5.2 Sensibilité des germes aux antibiotiques

Nos souches de *Klebsiella* ont été largement sensibles à la colistine (100%), à l'imipénème (100%), aux aminosides (amikacine 96,9%, gentamicine 80% et tobramicine 78,6%) et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céftazidime 83,6% et céfotaxime 78,2%). KANTE en 2009 à l'INSP a rapportée une bonne sensibilité aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céftriazone 70% et céftazidime 74,3%) [9]. Notre résultat est similaire à celui de NIANDOU qui a rapporté une large sensibilité de ses souches de *Klebsiella* à la colistine (100%), à la céfoxitine (84 %), aux aminosides (amikacine 87,0%, et à la gentamicine 60,0%). Les souches de NIANDOU ont été moins sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération qu'aux nôtres, il s'agit de la céftazidime (59,0%), et la céfotaxime (58,0%) [63]. Cela pourrait être dû à une utilisation inappropriée de ces molécules chez les souches étudiées par NIANDOU. En 2010, KEITA à l'INSP a rapporté une bonne sensibilité de ses souches aux aminosides, aux fluoroquinolones, ainsi qu'aux céphalosporines [10]. KONARE en 2018 au CHU du Point G a fait les mêmes constats sur ses souches de *Klebsiella* en rapportant une bonne sensibilité à la colistine (98,75%), à l'amikacine (97,53%), à la céfoxitine (95,35%), à l'imipénème (91,49%) et

au chloramphénicol (72,15%) [64]. Cette ressemblance observée par rapport à notre étude pourrait s'expliquer que ces antibiotiques gardent toujours leur activité sur les souches de *Klebsiella*.

Nos souches d'*Escherichia coli* ont été sensibles à la colistine (100%), à l'imipenème (100%), à l'amikacine (85,3%), et au chloramphénicol (72,7%), mais moins sensible à l'association de l'amoxicilline + acide clavulanique et aux céphalosporines. Nos résultats sont similaires à ceux de KONARE qui a rapporté une bonne sensibilité à la colistine (98,71%), à l'amikacine (95,95%), à l'imipenème (92,27%), et au chloramphénicol (77,27%) [64]. Par contre, NIANDOU a rapporté une large sensibilité des souches d'*Escherichia coli* aux céphalosporines [63]. Cela pourrait s'expliquer par l'usage abusif de ces antibiotiques sur nos souches d'*Escherichia coli* étudiées.

Nos souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une bonne sensibilité aux macrolides (pristinamycine 95,9% et érythromycine 78,1%) aux aminosides (tobramicine 87,5%, amikacine 87,0% et la gentamicine 85,4%), au chloramphénicol (78,6%), à l'oxacilline (78,3%), et au sulfamide + triméthoprim (73,8%). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par KANTE qui a retrouvée une bonne sensibilité à l'oxacilline (70,6%), aux aminosides (tobramicine 86,9%, amikacine 83,7% et gentamicine 70,6%), au chloramphénicol (76,6%), aux macrolides (érythromycine 71,2% et pristinamycine 99%) et au sulfamide + triméthoprim (74,2%) [9]. KEITA a également rapporté une bonne sensibilité aux aminosides, aux macrolides ainsi qu'aux fluoroquinolones [10]. Ces différentes ressemblances de nos données et celles des autres montrent que ces antibiotiques ont toujours un pouvoir inhibiteur sur les souches de *Staphylococcus aureus*. Par contre, SOUDE au Cotonou en 2004, a rapporté une faible sensibilité aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones excepté l'oxacilline (81,8%) [7]. Cette faible sensibilité aux souches de SOUDE pourrait s'expliquer par l'utilisation irrationnelle de ces antibiotiques.

5.3 Phénotypes de résistance des germes aux antibiotiques

Pour les souches de *Klebsiella*, 12% étaient productrices de bêta-lactamase à spectre élargi, suivies par les pénicillinases de haut niveau (PHN) avec 9,8%. Nos résultats sont superposables à ceux rapportés par ZOMAHOUN au Bénin qui a trouvé 16,7% pour les BLSE et 11,1% pour les PHN [66]. Nos résultats étaient plus bas à celui rapporté par NIANDOU qui retrouvait 43,3% de BLSE et 32,5% de pénicillinase de haut niveau (PHN) [63]. KANTE avait rapporté que le phénotype PHN était plus fréquent avec 34,3% suivi par les BLSE avec 27% [9].

Pour la résistance des souches de *Klebsiella* aux aminosides, le phénotype (Gentamicine) était le plus exprimé avec 12%. Ainsi pour les quinolones, le phénotype (II) était le plus représenté avec 10,9% suivi par le phénotype (IV) dont 9,8%.

Concernant les souches d'*Escherichia coli*, le phénotype bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE) était le plus exprimé avec 23,1% suivi par le phénotype pénicillinase de bas niveau (PBN) dont 7,7%. Ces résultats sont superposables à ceux rapportés par TIMBINE qui retrouvait 25% de souches productrices de BLSE et 15% de PBN [67]. Les résultats rapportés par KANTE ont exprimés 38,2% du phénotype PHN suivi par le phénotype BLSE avec 22% [9]. En 2019, les données rapportées par DEMBELE, étaient de 18% des souches productrices de bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE) et 25% de pénicillinase de bas niveau (PBN) [65]. Pour la résistance aux aminosides, le phénotype (Gentamicine) était le plus fréquent (20%), suivi par le phénotype (Amikacine 16,9%) chez les souches d'*Escherichia coli*. Les phénotypes II et IV avaient exprimés les mêmes pourcentages avec 9,2% pour les quinolones.

Les BLSE étaient les plus fréquentes avec 25% pour les souches d'*Enterobacter*. Ce résultat était plus haut qu'à ceux rapportés par NIANDOU et KANTE qui retrouvaient 7,5% [63] et 13% [9] de BLSE. Comme les souches précédentes (*Klebsiella et E. coli*), le phénotype (Gentamicine) était le plus exprimé pour les souches d'*Enterobacter* aux aminosides avec 15%. Cela pourrait être dû à la prescription massive et l'usage abusif de cette molécule.

Le phénotype Pénicilline-R/Oxacilline-S et Pénicilline-R/Oxacilline-R ont été les plus fréquents pour nos souches de *Staphylococcus aureus* avec 48,1 et 18,2%. Ces résultats sont inférieures à ceux rapportés par KANTE qui a retrouvée une fréquence de 66,8% de Pénicilline-R/Oxacilline-S et 29,3% de S.A.R.M [9]. Mais la fréquence des souches d'AHANOGBE à la méticilline était supérieure aux nôtres avec 50% [68]. L'évolution de la résistance à la méticilline est d'autant plus importante que la méticilline (oxacilline) est responsable de la résistance à l'ensemble des bêta-lactamines. Ce qui explique la résistance croisée entre les méticilline et les autres bêta-lactamines ; d'où une modification des schémas thérapeutiques. Nous avons observé que les phénotypes MLSB (inductible) et MLSB (constitutif) pour la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux macrolides ont exprimé le même pourcentage de résistance dont 9,1%, suivi par le phénotype Erm (Erythromycine) avec 7,8%.

5.4 Bactéries multi résistantes (BMR)

L'observation des souches bactériennes à au moins 3 familles d'antibiotiques, nous a permis d'identifier les bactéries multi résistant.

Parmi les BMR que nous avons trouvés, les *Streptocoques* étaient les plus représentées avec 45,5%. Contrairement à notre étude, AHANOGBE a rapporté une fréquence de *Staphylococ-*

cus aureus de 37,6% [68]. D'autres souches bactériennes ont été identifiées comme multi résistantes, il s'agit d'*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella morganii*, *Serratia* et *Acinetobacter*. La remarque est que les entérobactéries tiennent une importante place des BMR.

6. CONCLUSION

En conclusion, nous dirons que la résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Elle est responsable d'une hospitalisation prolongée et entraîne une augmentation des dépenses médicales et de la mortalité.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques montre que la colistine, l'imipénème et les aminosides sont les antibiotiques les plus actifs sur les souches de *Klebsiella* ; mais aussi les céphalosporines de 3^{ème} génération.

Pour la sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques ; la pristinamycine, l'érythromycine, les aminosides, le chloramphénicol, l'oxacilline et sulfamide + triméthoprime sont des antibiotiques les plus actifs.

La sensibilité pour les souches d'*Escherichia coli* nous montre que la colistine, l'imipénème, l'amikacine et le chloramphénicol sont des antibiotiques les plus actifs.

Le phénotype BLSE était le plus exprimé par rapport aux autres phénotypes. Les Streptocoques étaient plus prédominants parmi les bactéries multi résistantes avec 45,5%.

7. Recommandations :

A l'issue de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

- Au Ministère de la santé et du développement social :
 - Mettre en place au niveau national un programme de surveillance de l'évolution de la résistance aux antibiotiques ;
 - Sensibiliser la population à éviter l'automédication qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes ;
- A la direction de l'INSP :
 - Approvisionner régulièrement le laboratoire en réactifs, disques d'antibiogrammes et autres consommables de laboratoire.
- Aux Pharmaciens d'officine :
 - Dispenser uniquement les antibiotiques que sur prescription médicale ;
 - Discutez avec les patients de la manière de prendre correctement les antibiotiques, de la résistance aux antibiotiques et des dangers d'abus.
- Aux cliniciens :
 - Renseigner complètement les entêtes des bulletins d'analyses
 - Réaliser un prélèvement bactériologique avant toute antibiothérapie ;
 - Discutez avec les patients de la prévention des infections
- Aux patients :
 - Respecter la prescription : dose, fréquence, durée et heures de prise du traitement
 - Ne pas arrêter le traitement précocement, même si l'état s'améliore
 - Ne pas réutiliser sans avis médical les antibiotiques entamés ou non utilisés

8. REFERENCES

1. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d'ampleur mondiale 2014.
Disponible sur: (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/Fr/>).
2. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Résistance aux antibiotiques. Novembre 2015.
Disponible sur: (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/fr/>).
3. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Surveillance des bactéries multi résistantes dans les établissements de santé en France. Disponible sur: ([http://www.invs.sante.fr/Dossierthematiques/Maladies infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Publications-de-reference](http://www.invs.sante.fr/Dossierthematiques/Maladies_infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Publications-de-reference)).
4. OMS | Résistance aux antimicrobiens [Internet]. WHO. [Cité 2 janv. 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/fr/>
5. Tadesse BT, Ashley EA, Ongarello S, Havumaki J, Wijegoonewardena M, González IJ, et al. Antimicrobial resistance in Africa: a systematic review. BMC Infect Dis [Internet]. 11 sept 2017 ; 17(1): 616.
6. Ouédraogo A., Jean Pierre H, Banuls A., Ouédraogo R, Godreuil S. Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisants et évaluation de la menace. Med Santé Trop. 2017;27(2):147-54.
7. SOUDE SENA GBENOU ADEBOLA ARNAUD. Bactéries isolées des hémocultures au laboratoire du centre national Hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou Maga de Kotonou. These Pharm. N° 05-P-84 Cotonou (BENIN)
8. Diakité S. Etude bactériologique des suppurations examinées au laboratoire bactériologique de l'I.N.R.S.P. These Pharmacie. Bamako 2001 N°43.
9. KANTE M. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées en routine dans divers prélèvement à l'INRSP [thèse]. Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2009 ; N°58.
10. KEITA O. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires [thèse]. Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2010 ; N°31.
11. consulté le 22 mai 2019: <http://www.ccar-ccra.org/history-f>

12. BEUCLER. A. Maladie infectieuses: les antibiotiques, infectiologie. L'objectif médical. Publication médicafrrique. N° spécial et hors série, 1990 p3-16.
13. ALFANDARIE. S. Fédération de maladie infectieuses et réanimation-centre hospitalier Tourcoing FUHMIR 10/2000/ bonne utilisation des antibiotiques pour éviter de sélectionné des germes multi résistantes. Service des Maladies du sang du CHU de Lille.
14. CARBON.C, REGNIER. B, SAIMOT.AG, VALIDE. JL, NI. P. Médicaments anti-infectieux «antibiotiques». medecine-science-flammarion. Paris .p 3-261.
15. consulté le 22 mai 2019 :

<http://www.crdp.acclermont.fr/etabliss/bpambert/eleves/medicaments/antibiotiques.htm>
16. D.YALA, A.S.MERAD, D. MOHAMEDI, M.N. OUAR KORICH Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb 2001 n°91. www.google.com
17. consulte le 23 mai 2019 : <http://www.inserm.fr/information-en-sante/dossierinformation/resistance-antibiotiques>
18. EUGENIE BERGOGNE-BEREZIN. Antibiotiques antibactériens. Classification, principe et règle d'utilisation. Revue du praticien 2001. numéro: 8 pages 903 à 909.
- 19.Sow S.M. Contribution de l'informatique dans la gestion de laboratoire d'analyse médicale en milieu hospitalier. These Pharmacie, Bamako, 1988, N°19.
20. Duval J. Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens. In : LE Minor et Véron M (eds). Bactériologie médicale, Flammarion, Paris 1989 ; 273-96.
21. Moati J. Les nouvelles bêta-lactamines. Med, Mal infect, 1989 ; 19 :706-9.
22. Sarr A.M. Nature et sensibilité aux antibiotiques des germes rencontrés dans maux perforants plantaires d'origine lépreuse l'Institut Marchoux de Bamako. ThesePhar 1997 FAPH, Bamako 4P97, N°4.
23. JACQUES TANKOVIC. Antibiotiques antibactériens: Donnée générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance. 2000; 50 (4): 425-32
24. Leclercq R. Résistance des entérobactéries aux glycopeptides, Med, Mal infect 1997, 27: 1943-45.
- 25.Buu-hoï A. Cocci à Gram positif et Macrolides-Lincosamines-Streptogramines In : Courvalin .P (eds). L'antibiogramme m, p, c, Videom Paris 1985 /PP : 41-42.

- 26.** Fleurette J. Activité antibactérienne de l'acide fusidique et notamment l'activité antistaph. Lettre infect, 1992 hors série : 3-5.
- 27.** Meynard J.L. et Fortier J. Lincomycine, synergistines, In : Ency Méd. chir (Elsevier, Paris) Mal infect. 8-004-F-10. 1996 4 P.
- 28.** Diall M.G. Activité antibactérienne comparée de 3 quinolones (acide nalidixique, péfloxacin et ciprofloxacine) sur 423 souches bactériennes isolées au Mali : These Pharmacie, Bamako, 1989.
- 29.** Chopra I. Efflux-based antibiotic resistance mechanisms: the evidence for increasing prevalence. J, antimicrobialchemother, 1992; 30:737-39.
- 30.** FERON A. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. La Madeleine : C et R, 1989 ; 375p.
- 31.** Weiss K. la résistance bactérienne la nouvelle guerre froide. Le Médecin du Québec, volume 37, numéro 3, 2002
- 32.** Courvalin P. La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad. Vét. France —2008 - Tome 161 -N°1
- 33.** Galimand M, Sabtcheva S, Courvalin, P.Lambert T. Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 2949 – 2953
- 34.** Consulter le 23 mai 2019 : [http //:www.docplayer.fr/43699796-Epidemiologie-de-la-resistance-bacterienne-aux-antibiotiques-au-chu-de-marrakech.html](http://www.docplayer.fr/43699796-Epidemiologie-de-la-resistance-bacterienne-aux-antibiotiques-au-chu-de-marrakech.html)
- 35.** C. BILLY. Détection génotypique des résistances bactériennes : De la phénotypie à la génotypie, deux méthodes complémentaires. Réanimation 2003; 12: 192-197
- 36.** D.YALA, A.S. MERAD, D. MOHAMEDI, M.N. OUAR KORICH
Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb 2001 n°91
- 37.** J.P. EUZEBY: Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
Adresse URL : <http://www.bacteriologie.ne/generale/resistanceantibiotiques.html>
- 38.** IDSA (infection disease society of America) Bad bugs, no drugs...As antibiotic discovery stagnate a public health crisis brews. Livre Blanc, July 2004

- 39.** MAMMERI H, VAN DE LOO M, POIREL L, MARTINEZ L, NORDMANN P. Emergence of plasmide-mediated quinolone résistance in Escherchia coli in Europe. Antimicrobial agent chemotherapy. 2005; 49 (1): 71-76
- 40.** NORDMMAN P. L'émergence de la résistance plasmidiqueaux quinolone chez les entérobactéries: Emergence of plasmide-mediated quinolone résistance in enterobactériaceae-pathologie biologie, in press, corrected proof. available online 2 March 2005.
- 41.** Rubin MA, Samore MH. Antimicrobial Use and Resistance.Curr Infect Dis Rep 2002; 4: 491-7.
- 42.** Sorensen TL, Blom M, Monnet D, Moller N, Poulsen RL, Espersen F. Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic resistant Enterococcus faecium from chicken and pork.NEng J Med 2001 ; 345 : 1161-6.
- 43.** White DG, Zhao S, Sudler MS, Ayers S, Friedman S, Chen S,McDermott PF, et al. The isolation of antibiotic-resistant salmonella from retail ground meats.NEng J Med 2001 ; 345 : 1147-54.
- 44.** Dagan R, Klugman KP, Craig WA, Baquero F. Evidence to support the rationale that bacterial eradication in respiratory tract infection is an important aim of antimicrobial therapy. J AntimicrobChemother 2001 ; 47 : 129-40.
- 45.** Gutmann L. Résistance aux antibiotiques. Disponible sur:
<http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/resistance-aux-antibiotiques>).
- 46.** Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, et al. Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. Ann Intern Med 1991; 115: 585-90.
- 47.** Meyer KS, Urban C, Eagan JA, et al. Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins. Ann Intern Med 1993; 119: 353-8
- 48.** Juan C, Gutierrez O, Oliver A, et al. Contribution of clonal dissemination and selection of mutants during therapy to Pseudomonas aeruginosa antimicrobial resistance in an intensive care unit setting. ClinMicrobiol Infect 2005 ; 11 : 887-92
- 49.** Ortega B, Groeneveld AB, Schultz C. Endemic multidrug-resistant Pseudomonasaeruginosa in critically ill patients.Infect Control HospEpidemiol 2004 ; 25 : 825-31.

- 50.** Barbier F, Wolff M .Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique. *Medecin/Sc* 2010; 26: 960-8
- 51.** Ballow CH, Schentag JJ. Trends in antibiotic utilization and bacterial resistance : report of the National Nosocomial Resistance Surveillance Group. *DiagnMicrobiol.Infect Dis*, 1992; 15:37-42.
- 52.** McGowan JE, Hall EC, Parrott PL. Antimicrobial susceptibility in gram negative bacteremia : are nosocomial isolates really more resistant. *Antimicrob Agents Chemother* 1989 ; 33 :1 855-9.
- 53.** Zogheib E, H. Dupont. Entérobactéries multirésistantes. Conférences d'actualisation 2005, p. 153-165. 2005 Elsevier SAS
- 54.** Regnier B. Bacteria, multiresistant to antibiotics, in intensive care units: epidemiological context and strategies of control. *Pathol-Biol* 1996; 44: 113-23
- 55.** Agodi A, Barchitta M, Cipresso R, et al. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intensive Care Med* 2007; 33 : 1155-61.
- 56.** Johnson JK, Smith G, Lee MS, et al. The role of patient-to-patient transmission in the acquisition of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* colonization in the intensive care unit. *J Infect Dis* 2009 ; 200 : 900-5.
- 57.** Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006 ; 50 : 43-8.
- 58.** Furtado GH, Bergamasco MD, Menezes FG, et al. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection at a medical-surgical intensive care unit: risk factors and mortality. *J Crit Care* 2009; 24: 625 e9-14.
- 59.** Van Boeckel TP et al. Augmentation de la consommation des antibiotiques. *Lancet Infect Dis*, 2014; 14 (8): 742-50.
- 60.** Bréchet C et al. What Happens in Hospitals Should Stay in Hospitals. *Clin Infect Dis*, 2014; 58(12): 1658-65.
- 61.** CA-SFM. (2019). Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie.

Sur le lien: <http://www.sfm.asso.fr/>

- 62.** RAMOUL A. Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses [thèse Microbiol]. Annaba: Université Badji Mokhtar – Annaba; 2013.
- 63.** NIANDOU M. Sensibilité et évolution de la résistance des Entérobactéries aux antibiotiques [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2005 ; N^O79.
- 64.** KONARE S. Sensibilité des souches d'Entérobactéries isolées en 2016 au Laboratoire de Biologie Médicale et Hygiène Hospitalière du CHU du Point G [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2018 ; N^O53.
- 65.** DEMBELE A. Surveillance de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées au Laboratoire Rodolphe Mérieux de 2016 à 2017 [thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2018 ; N^O64.
- 66.** 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 ; N^O11.
- 67.** LassinaGadiTimbine. Etude des marqueurs moléculaires de la résistance aux antibiotiques des bactéries entériques isolées en afrique de l'ouest (burkinafaso, mali, sénégal). Cheick AntaDiop de Dakar; 2014, N^O201.
- 68.** AHANOGBE Kokou AL. Résistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques: Diagnostic et Surveillance au Laboratoire Rodolphe Merieux de Bamako [Internet]. [Bamako]: FAPH; 2014 ; N^O23. Disponible à: www.keneya.net

Fiche signalétique

Nom : SOGOBA

Prénom : Lassina

Nationalité : Malienne

Section : Pharmacie

Titre : Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les prélèvements de pus et d'expectorations de 2016 à 2018 à l'INSP

Payes de soutenance : Mali

Ville de soutenance : Bamako

Lieux de dépôt : Bibliothèque de la FMOS/FAPH de Bamako

Secteur d'intérêt : Bactériologie-Epidémiologie-Santé Publique

Email : lassinasgb@gmail.com

Tel : +0022375128894

Année : 2020-2021

RESUME

L'objectif de ce travail était de déterminer la sensibilité des bactéries isolées dans les prélèvements de pus et d'expectorations au laboratoire de bactériologie-virologie à l'Institut National de Santé Publique.

C'est une étude rétrospective sur trois ans allant de janvier 2016 à Décembre 2018. L'étude de la sensibilité a été faite par la méthode de diffusion d'antibiotiques sur gélose de Mueller-Hinton selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ou par le Vitek2 Compact.

Durant la période d'étude 445 bactéries ont été isolées, les principales bactéries isolées ont été *Klebsiella sp* (20,7%) et *Staphylococcus aureus* (17,3%).

Les antibiotiques les plus actifs sur les souches de *Klebsiella* ont été la colistine, l'imipénème, les aminosides (amikacine, gentamicine et tobramicine), et les céphalosporines de 3^{ème} génération.

Les antibiotiques les plus actifs sur les souches de *Staphylococcus aureus* ont été la pristina-mycine, l'érythromycine, les aminosides (tobramicine, amikacine, gentamicine), le chloramphénicol, l'oxacilline et sulfamide + triméthoprime.

Mots-clés : Sensibilité ; bactéries ; pus ; expectoration ; antibiotiques ; INSP ; Bamako (Mali).

Material Safety Data Sheet

Name: SOGOBA

First name: Lassina

Nationality: Malian

Section: Pharmacy

Title: Monitoring of the sensitivity of bacteria isolated in the Specimens of pus and sputum from 2016 to 2018 at the INSP

Defense pay: Mali

Defense city: Bamako

Places of deposit: FMOS / FAPH library in Bamako

Area of interest: Bacteriology-Epidemiology-Public health

Email: lassinasgb@gmail.com

Phone: +0022375128894

Year: 2021

ABSTRACT

The objective of this work was to establish the sensitivity bacteria isolated in samples of pus and sputum in the bacteriology-virology laboratory in the institute National Public Health. It is a retrospective study over three years from January 2016 to December 2018. The study of the sensitivity was made by the method of diffusion of antibiotics on agar Mueller-Hinton as recommended by the Society's Antibiotic Committee French Microbiology or by the Vitek2 Compact. During the study period 445 bacteria were isolated, the main bacteria isolated were *Klebsiella sp* (20,7%) and *Staphylococcus aureus* (17,3%). The most active antibiotics against on strains of *Klebsiella* were colistin, imipeneme, aminoglycosides (amikacin, gentamicin and tobramicin), and cephalosporins of 3th generation. The most active antibiotics against on strains of *Staphylococcus aureus* have been spristinamycin, erythromycin, aminoglycosides (tobramicin, amikacin, gentamicin), the chloramphenicol, oxacillin and sulfonamide + trimethoprim.

Keywords: Sensitivity ; bacteria ; pus ; sputum ; antibiotics ; INSP ; Bamako (Mali).

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de 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.